Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Technology of Applied of Sciences
Dep.Biotechnology Division

The effect of extracted crude ethanolic alcohol of *Petroselinum crispum* seeds and leaves on white mice and some of cancer cells lines

A thesis

Submitted to the Department of applied Science/
University of Technology in partial Fulfillment of the
Requirements for the degree of M.Sc. in Biotechnology.

By

Afnan Ismail Abd-Alwahab

B.Sc. Biology

Supervision

Dr.Abbas Abdullah Mohmmed Dr.Shalal Murad Hussian

2010 A.D. **1431 A.H.**

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
الجامعة التكنولوجية
قسم العلوم التطبيقية
فرع التقنيات الاحيائية

تأثير مستخلص الكحول الاثيلي الخام لبذور واوراق نبات المعدنوس *Petroselinum crispum* في الفئران البيض وفي بعض الخطوط الخلوية السرطانية

رسالة مقدمة الى

مجلس قسم العلوم التطبيقية-الجامعة التكنولوجية وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في التقنيات الاحيائية .

من قبل

أفنان اسماعيل عبد الوهاب

بكلوريوس علوم حياة

بأشراف

أ.م د. عباس عبد الله محمد | **أ.م د. شلال مراد حسين**

١٤٣١ هـ | **٢٠١٠ م**

المقدمة Introduction

ارتبط وجود معظم الحضارات دائما بالنباتات،فكانت اكثر حاجة اليها فحافظت على مقدراتها الغذائية من خلال تهيئة النظم البيئية والموارد الطبيعية لها فشقت لها الانهار والجداول وانشأت السدود وقد احتل الانتاج الزراعي والصناعي والدوائي مكانة مهمة من قبل كثير من الدول.

تعد النباتات مصدراً مهماً لصناعة العقاقير الطبية لوجود بعض المواد الكيميائية ذات الفعالية البايولوجية لذا أعتمدت في تحضيرالكثير من الادوية والعقاقير الطبية. اثارت النباتات الطبية انتباه العلماء منذ فترة طويلة بعد انتشارأستعمالها كوسيلة علاجية لكثير من الحالات الطبية خاصة في السنوات الاخيرة عندما أتضح تأثيرها لتحضير الكثير من الادوية والعقاقير الطبية لفعاليتها البايولوجية الدوائية وسرعة تأثيرها العلاجي ولقلة تأثيراتها الجانبية السلبية التي تحدثها الادوية المصنعة كيميائيا،لذاأصبحت أفضل الوسائل العلاجية لكثير من الامراض التي تسقم الجنس البشري (قطب،1979) .

درس العلماء بصورة مستفيضة في اقطار مختلفة من العالم العديد من المستخلصات النباتية لتوضيح المكونات الكيميائية المؤثرة وراثياً، وتعد الدراسات المتعلقة بهذا الموضوع ذات طابع مهم في جوانب المعرفة العلمية والتطبيقية،أذ برزت في الآونة الاخيرة دراسات متخصصة بالنباتات الطبية بعد كشف النقاب عن مكانتها في الطب الحديث فأولت منظمة الصحة العالمية (WHO)أهمية كبيرة في توسيع استعمال الأدوية من المصادر النباتية بدلا من الادوية المصنعة كيميائيا(*Islam et al.*,1994) فكانت الدراسات التي قام بها العديد من الباحثين في المراكز البحثية والمتاحف المتخصصة،كشفت النقاب عن الأهمية الكبيرة لبعض

المستخلصات النباتية واعطت للمهتمين فرصاً تم من خلالها التعرف على الكثير من التراكيب الكيميائية ذات الفعالية الطبية،فعلى سبيل المثال لا الحصر لوحظ للعديد من المستخلصات النباتية تأثير مضاد لبعض السرطانات لاحتوائها على مركبات تؤثر في آليات الانقسام الخلوي من خلال تأثيرها في تضاعف الحامض النووي الـ(DNA) اوأحد الانزيمات المهمة في التضاعف والتي تمنع تكوين الأنبيبات الدقيقة لخيوط مغزل انقسام الخلية كمادة الكولجيسين Colchicine المستخلصة من نبات *Colchicum cwtumnale* اذ تمنع بلمرة بروتين tubulin مما تؤدي الى توقف الكروموسومات في الطور الاستوائي وبالتالي تمنع أتمام عملية الأنقسام الخلوي (Usui *et al*., 1998).كذلك الحال مع مادة Benzo phenanthridin وهي من القلويدات التي تعمل على تثبيط الأنقسامات المتعددة لبعض انواع خلايا الخطوط السرطانية للانسان والمقاومة للعقاقيرالطبية ودفعها الى الموت المبرمج Apoptosis (Lopus and Panda, 2006).لذا عدت بعض المستخلصات النباتية الطبية كمضادات التسرطن Anti-carcinogens والسرطان Anti-cancer (Gurib-Fakim , 2005).

تزايدت اهمية النباتات الطبية عندما اتضح دورها في حماية المادة الوراثية من تأثير المطفرات البيئية وقابلية مكوناتها على تصحيح الآخطاء الوراثية التي تحدثها هذه الطفرات (Manosori *et al*., 2005).

ونظرا الى ما تقدم اختير نبات المعدنوس *Petroselinum crispum* وهو نبات عشبي ثنائي الحول لهذه الدراسة.

الهدف من الدراسة

في ضوء ما تقدم صممت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير المستخلصات الكحولية لنبات المعدنوس من خلال:

اولا:دراسة بعض التحليلات الوراثية والخلوية في الفئران المختبرية المعاملة بتركيز مختلفة من مستخلص بذور واوراق نبات المعدنوس وكما يأتي:

1- معرفة اهم المركبات الفعالة للمستخلص النباتي لكل من الاوراق والبذور.

2- دراسة معامل الانقسام Mitotic index لخلايا نقي العظم Bone marrow في الفئران المختبرية.

3-دراسة تشكيل النوى الصغيرة Micronuclei formation .

4-دراسة التشوهات الكروموسومية Chromosomal aberrations للخلايا الجسمية في نخاع العظم Bone marrow في الفئران المختبرية.

ثانيا:دراسة تأثير المستخلص الكحولي على خطوط الخلايا السرطانية.

الخلاصة

هدفت الدراسة إلى اختبار تأثير مستخلص الكحول الاثيلي الخام لبذور وأوراق نبات المعدنوس *Petroselinum crispum* ، في خلايا نقي العظـم للفئران المختبرية(*Mus musculus*)، وفي ثلاث خطوط سرطانية هم (Hep-2 و HeLa وAMN-3).

تم الكشف الكيميائي عن بعض المكونات الكيميائية للمستخلص الكحولي الخام لبذور وأوراق نبات المعدنوس،فوجد إن بذور النبات تحتوي على المركبات الكيميائية (الفلافونويدات والسترويدات والكلايكوسيدات) ، واحتوى المستخلص الكحولي لأوراق النبات على (الصابونيات والراتنجات ولقلويدات والتربينات والسترويدات والتأنينات والفلافونات والكلايكوسيدات والراتنجيات والقلويدات)، تم الحصول على 25 ملغم من المستخلص الكحولي الخام من أصل 50 غم من البذور بنسبة استخلاص 14.29% وللأوراق الجافة نسبة استخلاص 11.9% .

درس التأثير الوراثي الخلوي للتراكيز 250 ، 500 ، 1000 ، 2000 ملغم/كغم من المستخلص الكحولي الخام لبذور وأوراق النبات في الخلايا الجسمية (نقي العظام Bone marrow) في الفئران المختبرية بعد تجريعها الفموي للفترات 7 ، 14 ، 21 ، 28 يوماً وأظهرت النتائج حصول تثبيط معنوي في مؤشر انقسام الخلايا الجسمية للجرعتيـ ـن 500 ، 250 ملغم/كغم للأيام 21 ، 28 مقارنة بالفئران غير المعاملة في كل من المستخلص الكحولي للبذور والأوراق في حين اظهر المستخلص الكحولي انخفاضا طفيفا في اختباري تشكيل النوى الصغيرة والتغيرات الكروموسومية .

تم التحري عن التأثير السمي الخلوي للمستخلص الاثيلي الخام لأوراق نبات المعدنوس في كل من خط خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) وخط خلايا سرطان الرحم (HeLa) وخط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3)، أذ تم أخذ تراكيز مختلفة من المستخلص (0.95, 1.9, 3.8, 7.7, 15.5, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 8000, 1000, 2000, 4000, 6000,١٠٠٠٠, ١٢٠٠٠, ١٤٠٠٠, ١٦٠٠٠) مكغم/مل ، فلوحظ عدم وجود تثبيط عند التراكيز(62.5,31.25,15.5,7.7,3.8,1.9,0.95,125) مكغم/مل اما التراكيز(1000,500,250) مكغم/مل فكانت نسبة تثبيط نمو خلايا الخطوط الثلاث عندها اقل من 50 % وعند التركيزين (4000,2000) مكغم/مل فكانت نسب التثبيط (63%,66%) على التوالي اما التراكيز (16000,14000,12000,10000,8000,6000) مكغم/مل فكانت نسبة تثبيط نمو الخلايا عندها عالية تجاوزت 70% لذلك تم اعتماد هذه التراكيز والأخذ بها واختبار فعاليتها في القتل لفترات تعرض مختلفة هي 72,48,24 ساعة .

توصلت الدراسة إلى وجود تأثير سمي قاتل للمستخلص الكحولي للنبات عند التراكيز الست المعتمدة أذ تراوحت نسب التثبيط للخط (Hep-2) من70.242 % عند التركيز6000 مكغم/مل إلى 75.778 %عند التركيز16000 مكغم/مل عند فترة التعرض24 ساعة وكانت نسب التثبيط لخلايا الخط نفسه من71.626 % عند تركيز6000مكغم/مل إلى 77.093% عند التركيز16000 مكغم/مل عند فترة التعرض 48 ساعة وكانت النسب من72.594%عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى79.130% عند فترة التعرض 72 ساعة .

إما الخط الخلوي السرطاني (HeLa) فكانت نسبة التثبيط تتراوح من73.840% عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 79.238 % عند التركيز 16000 مكغم/مل لفترة تعرض24

ساعة وكانت النسب من79.930 % عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى86.505 % عند التركيز 16000 مكغم/مل عند فترة التعرض 48 ساعة وكانت من82.353%عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 88.581 %عند التركيز16000مكغم/مل عند فترة التعرض 72 ساعة .

بالنسبة للخط الخاوي السرطاني AMN-3 كانت نسبة القتل تتراوح من 71.97% عند التركيز6000 مكغم/مل إلى 78.20% عند التركيز 16000 مكغم/مل ولفترة تعرض 24 ساعة وتراوحت نسبة القتل من 74.04%عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 80.96% عند التركيز 16000 مكغم/مل عند فترة تعرض48 ساعة وكانت نسبة القتل من 75.08% عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 82.69%.عند التركيز 16000 مكغم/مل عند فترة تعرض 72 ساعة .

من هذه النتائج التي تم الحصول عليها يمكن الاستنتاج بان نبات المعدنوس يعد من أهم النباتات الطبية الواعدة ذات الدور الفعال في معالجة السرطان من خلال تأثيره التثبيطي والسمي القاتل في الخلايا السرطانية .

قائمة المحتويات :

قائمة الجداول

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1-4		٥٤
2-4		٥٦
3-4		٦٠
4-4		٦٣
5-4		٦٧
6-4		٦٩
7-4		٧١
8-4		٧٦
9-4		٨٠
10-4		٨٥
11-4		٨٨
12-4		٨٩
13-4		٩٠
14-4		٩١

قائمة الأشكال

الصفحة	عنوان الشكل	التسلسل
	٤-١٣

قائمة المختصرات :

AFB1	Aflatoxin B1
CFA	Cyclophosphamide
DNA	Deoxyribonucleic acid
EBV	Epstein- Barr Virus
HPV	Human Papillona Virus
HTLV-I HTLV-II	Human T-cell Lympho Viruses type I andII
IARC	International Agency For Research on Cancer
DMSO	Dimethyl sulphoxide
PBS	Phosphate Buffer Saline
RNA	Ribonucleic acid
WHO	World Heath Organization
Hep-2	Human larynx epidermoid larynx carcinoma
IR	Inhibition ratio
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
AMN-3	Ahmed-Mohammed-Nahi-2003
RPMI-1640	Rosswell Park Memorial Institute-1640
HeLa	Henritta Lacks

قائمة المصطلحات العلمية:

Alternative medicine	الطب البديل
Angiogenesis	التشكل الوعائي
Anti cancer	مضاد للسرطان
Anti metastatasis	مضاد للأنبثاق
Anti oxidant	مضاد للأكسدة
Benign tumor	أورام حميدة
Bone marrow	نخاع العظم
Cancer	سرطان
Carcinogenesis	نشوء السرطان
Carcinogenic agents	مواد مسرطنة
Carcinoma	سرطان النسيج الطلائي
Chromosomal aberrations	التشوهات الكروموسومية
Malignant tumor	أورام خبيثة
Micronuclei formation	تشكيل النوى الصغيرة
Mitotic index	معامل الانقسام
Mutagenic agents	مواد مطفرة
Radioisotopes	النظائر المشعة
Tumor suppressor genes	الجينات الكابحة للأورام
Cell line	خط خلوي
In vivo	داخل الجسم الحي (في الحي)
In vitro	خارج الجسم الحي (في الزجاج)

المواد وطرائق العمل: Material and Methods

ان الاجهزة والمستلزمات المختبرية والمواد الكيمياوية المستعملة موضحة بهيئة ملاحق في نهاية الرسالة (ملحق1 و2).

3-1:جمع وتصنيف نبات المعدنوس *:* Collection and classification of the plant *P.crispum*

تم الحصول على البذور والاوراق النباتية من السوق ، تم تجفيفها في الظل وبدرجة حرارة الغرفة ضمن محيط جيد التهوية وبعد ذلك طحنت باستعمال مطحنة كهربائية لغرض الحصول على مسحوق النبات الذي أستعمال لتحضير المستخلص الكحولي،وتم التأكد من تصنيف النبات من قبل الأستاذ الدكتور علي الموسوي/كلية العلوم /جامعة بغداد.

3-2:تحضير المستخلص الايثانولي للنبات: Preparation of ethanolic extract the plant

3-2-1:مستخلص البذور: The extraction of seeds

وزن 50 غم من مسحوق بذور النبات ثم وضع داخل كشتبان Thumble ووضع في جهاز سكسوليت (Soxhlet) حاوٍ على 300 مل من الكحول الاثيلي (80%) مدة 4-5 ساعات.بعد ذلك أخذ المستخلص الكحولي لبذور النبات ووضع داخل الحاضنة Incubater تحت درجة 37مْ حتى أكتمال جفافها من الكحول.

2-2-3:مستخلص الأوراق النباتية: **The extraction of leaves**

وزن 100 غم من مسحوق اورق النبات على دفعتين كل دفعة 50 غم ،ووضعت كل دفعة داخل كشتبان Thumble ووضعت في جهاز ساكسوليت حاوٍ ايضاً على 300 مل من الكحول الاثيلي (80%) مدة 4-5 ساعات لغرض الاستخلاص.بعد ذلك أخذ المستخلص الكحولي لاوراق النبات ووضع داخل الحاضنة Incubater تحت درجة 37مْ حتى أكتمال جفافها من الكحول.

3-3:تحضير جرع المستخلص: **Prepration of dose of exctraction**

حضرت اربع جرع من المستخلص الكحولي لاوراق وبذور نبات المعدنوس هي 2000,1000,500,250 ملغم/كغم وأعتمدت الجرعة تحت القاتلة Sub lethal dose والمؤثرة للمستخلص الكحولي الخام في الفئران المقترحة من قبل (التميمي ، 2008) لنبات الكرفس والذي ينتمي الى العائلة المظلية Umbelliferae التي ينتمي اليها نبات المعدنوس .

اذ قيمت التأثيرات الوراثية-الخلوية لتلك الجرع على نظام اللبائن بأعتماد فأر مختبري *Mus musculus* ضرب Balb/c الذي تم تجريعه عن طريق الفم Orally بواسطة محقنة خاصة معدة لهذا الغرض،اذ جرع كل حيوان بـ0.25 مل من الجرعة المخصصة له وكان التجريع بين يوم واخروتم تشريح الحيوانات بعد 28,21,14,7 يوماً للقيام بالدراسة الوراثية – الخلوية ولكلا المستخلصين الكحوليين لبذور واوراق النبات.

في حين أعتمدت التجارب المختصة بالخطوط السرطانية Hep-2 ؛HeLa ؛AMN-3 على مزارع الدم المستعملة من O.95 مكغم/مل الى 16000 مكغم/مل وقد أختيرت فقط

التراكيز(6000, 8000, 10000, 12000, 14000, 16000)مكغم/مل لفعاليتها في قتل الخلايا في الخطوط السرطانية المأخوذة.

4-3:الكشف الكيميائي عن أهم المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لبذور واوراق نبات المعدنوس.

1-4-3الكشف الكيميائي التمهيدي لبعض المكونات الكيميائية في اوراق نبات المعدنوس.

1-1-4-3:الكواشف المستعملة.

أ-الكشف عن القلويدات

أ-1-كاشف ماير Mayers Reagent

حضر على وفق ما ذكر في Atherder(1969) وكالاتي:

1-المحلول(آ):حضر باذابة 1.358 غرام من كلوريد الزئبقيك($HgCl_2$) في60 مل من الماء المقطر.

2-المحلول(ب):حضر باذابة 5 غرام من يوديد البوتاسيوم(KI)في 10 مل من الماء المقطر.

مزج 60 مليلتر من المحلول(أ) مع 10 مل من المحلول(ب)وأكمل الحجم الى 100مل من الماء المقطر وحفظ الكاشف الى حين الاستخدام.

أ-2 –كاشف دراجندروف (1969)Dragendroffs Regent

حضر على وفق ماذكر في (Stahl¡1969) وكالاتي:

1-المحاول(أ):حضر باذابة 0.85غرام من نترات البزموث القاعدية في خليط من 10 مل حامض الخليك و40 مل من الماء المقطر.

2-المحول(ب):حضر باذابة 8غرام من يوديد البوتاسيوم (KI) في 20 مل من الماء المقطر.

3-المحاول الخزين Stock solution:يحضر بخلط كميات متساوية من المحاول (أ) والمحاول(ب) ويمكن ان يحفظ لمدة طويلة في قنان زجاجية معقمة.

4-محاول الرش Spray reagent:يحضر بخلط 1 مل من محاول الخزين مع 2 مل من حامض الخليك مع 10 مل الماء ويحضر انياً قبل الاستعمال.

ب-الكشف عن السكريات

كاشف بندكت:حضر على وفق ماذكر في Stahl (1969) وذلك باذابة المواد الاتية في 100 مل من الماء المقطر.

1- 1.73غم من كبريتات النحاس المائية ($CuSO_4.5H_2O$).

2- 17.3غم من سترات الصوديوم.

3- 10غم من كاربونات الصوديوم الهدروجينية.

2-1-4-3:المحاليل المستعملة في الكشف عن أهم المركبات الكيميائية

أ-محاول كلوريد الزئبقيك$HgCl_2$

حضر بإذابة 1غم من كلوريد الزئبقيك $HgCl_2$ في 100 مل من الماء المقطر ويستعمل هذا المحلول في الكشف عن الصابونيات للمستخلص النباتي.

ب-محلول كلوريد الحديديك$FeCl_2$

حضر بإذابة 1غم من كلوريد الحديديك في 100 مل من الماء المقطر.

ج-محلول خلات الرصاصCH_3COOPb

حضرباذابة 1غم من خلات الرصاص في 100 مل من الماء المقطر

يستخدم المحلولان(ب وج) للكشف عن التنينات.

3-1-4-3:طريقة العمل للكشف عن أهم المركبات الفعالة

3-1-4-3-1:الكشف عن القلويدات Alkaloids

تم الكشف عن القلويدات باستعمال المحاليل التي تم ذكرها في (أ- 1 وأ-2)اذ يدل ظهورالراسب الابيض على وجود القلويدات في حالة استعمال كاشف ماير ويدل ظهور الراسب البني على وجودها في حالة استعمال كاشف دراجندورف.

3-1-4-3-2:الكشف عن الفلافونات Flavonoids

تم الكشف تبعا لما ورد في (1983) Jafferefal, *etal.*, اذ حضر المحلول (أ) وهو المستخلص الخام لبذور النبات بحجم 5 مل وحضر المحلول (ب)باذابة 10 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 50%"الى 10 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم بتركيز 50%،مزجت كميات متساوية من كل من المحلول (أ) و(ب) اذ يدل ظهور اللون الاصفر على وجود الفلافونات.ثم

قمنا باعادة نفس الطريقة وبنفس الكميات ولكن كان المحلول (أ) هو المستخلص النباتي الخام لأوراق النبات بحجم 5 مل مع المحلول (ب)المذكور أعلاه.

3-4-1-3-3:الكشف عن التربينات والسترويدات Terpens and Steroids

تم الكشف وفقاً لما ورد في Al-Maisry ؛(1999) وذلك بمزج 1مل من المستخلص النباتي مع 2مل من الكلوروفورم واضيفت اليه قطرة من حامض الخليك اللامائي وقطرة من حامض الكبريتيك المركز.ان تكون اللون البني الفاتح يدل على ايجابية الفحص للتربين اما ظهور اللون الازرق الداكن بعد ترك المزيج مدة طويلة (يوم كامل) فانه يدل على وجود السترويد.

3-4-1-3-4:الكشف عن السكريات والكلايكوسيدات Saccharides or Glycosides

تم الكشف باخذ 1مل من المستخلص الكحولي الخام واضيف له قطرات من HCL وتم غليهما مدة دقيقتين في حمام مائي وبعدها اخذ 2 مل من كاشف بندكت في انبوبة اختبار واضيف له 1مل من المستخلص ووضعت الانبوبة في حمام مائي مغلي مدة 5 دقائق ثم برد، ويدل تكون الراسب الاحمر على ايجابية الفحص (Evans؛1999).

3-4-1-3-5:الكشف عن الصابونيات Saponines

أجري الكشف عن الصابونيات وفقا لطريقة (1973)؛ Harborn وذلك بوضع1غم من المستخلص الكحولي لبذور النبات في أنبوبة أختبار ثم يضاف اليه 10مل من الماء المقطر وبعدها يرج المزيج بشدة وان ظهور رغوة كثيفة وبقاءها مدة طويلة يعد دليلا على ايجابية الفحص. وكذلك تم الكشف عن الصابونيات وفقا لطريقة الشامي (1982) وتتم باضافة (3-

1)مل من محلول كلوريد الزئبقيك الى 5 مل من المستخاص المائي لبذور النبات وان ظهور الراسب الابيض يعد دليلا على وجود الصابونيات وتعاد هذه الطريقة مع 1غم من المستخاص الكحولي لاوراق النبات.

3-4-1-3-6:الكشف عن الراتنجيات Resine

تم مزج 10غم من المسحوق النباتي مع 50 مل من الكحول الاثيلي (95%) ويترك المزيج لدقيقتين في حمام مائي مغلي ثم رشح المحلول واضيف 100مل من الماء المحمض بحامض الهيدروكلوريك (4%).وتم الاستدلال على وجود الراتنجيات وذلك بظهور عكورة واضحة في المحلول (Harborn¡1984).

3-5:الدراسة الوراثية-الخلوية **Genetic-cellular study**

3-5-1:الحيوانات المستعملة: **Animal using**

جريت فئران مختبرية *Mus musculus* ضرب Balb/c تم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع للمركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية /الجامعة المستنصرية بمعدل عمر يتراوح مابين 8-12 اسبوع وبمعدل وزن 25غم.وضعت في اقفاص خاصة واعطيت الماء والعليقة المجهزة من قبل المركز المذكور.

3-5-2:المحاليل المستعملة في الدراسة الوراثية – الخلوية

3-5-2-1:محلول الكولجيسين Colchicine Solution

حضر المحلول بأذابة حبة من الكولجسين 0.5 ملغم في 0.5 مل محلول دارى الفوسفات الفسيولوجي المعقم واستعمل انياً (Allen *et al*;1977).

3-5-2-2:محلول كلوريد البوتاسيوم (ناقص التوتر) Hypotonic Solution (KCl)

حضر المحلول باذابة 5.70غم من كلوريد البوتاسيوم في 1000 مل من الماء المقطر وحفظ في الثلاجة بحرارة 4م° وبذلك تم الحصول على تركيز 0.57% (0.057 مولاري) (Allen *et al*;1977).

3-5-2-3:محلول دارى الفوسفات الفسيولوجي (PBS) Phosphate Buffer Saline

حضر المحلول بأذابة 8غم من كلوريد الصوديوم NaCl و0.2 غم من كلوريد البوتاسيوم KCl و1.15 غم من فوسفات الصوديوم أحادي الهدروجيني Na_2HPO_4 و 0.2غم من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين KH_2PO_4 في 1000 مل من الماء المقطر ويضبط تحت اس هيدروجيني 7.2 ويحفظ في4 م°(Allen *et al*;1977).

3-5-2-4:المحلول المثبت Fixative solution

حضر المحلول بمزج ثلاثة حجوم من الميثانول المطلق CH_3OH مع حجم واحد من حامض الخليك الثلجي CH_3COOHوتم تحضيره انيا ويبرد في الثلاجة قبل استعماله (Allen et al,1977).

3-5-2-5:محلول بيكاربونات الصوديوم Sodium bicarbonate solution

تم تحضير هذا المحلول بأذابة 7.5 غم من بيكاربونات الصوديوم Na_2HCO_3 في 1000مل من الماء المقطر للحصول على تركيز (0.75%)،يحفظ هذا المحلول تحت 4مْ.

3-5-2-6:محلول التخزين (ملون كمزا) Stock solution of Giemsa

حضر الملون باذابة 1غم من مسحوق كمزا في 33 مل من الكليسرين Glycerine ووضع في حمام مائي تحت 60 مْ مدة ساعتين مع الرج المستمر ثم ترك المحلول مدة نصف ساعة في درجة حرارة الغرفة وعند ذلك أضيف اليه 66 مل من الكحول المطلق مع استمرار التحريك وحفظ في قنينة معقمة ومعتمة. اما محلول ملون كمزة فيحضر عند الحاجة بمزج المواد التالية:1مل من المحلول الخزين مع 1.25 مل من الكحول المثيلي المطلق و2.5 مل من محلول بيكاربونات الصوديوم و40 مل من الماء المقطر (Allen *et al*;1977).

3-5-2-7:المحلول الخزين لعقار سايكلوفوسفامايد Stock solution of Cyclophosphamide

أذيبت محتويات عبوة واحدة (0.5غم) من عقار سايكلوفوسفاميد في 25 مل من الماء المقطر المعقم وحفظ المحلول في الثلاجة وعد هذا المحلول محلول الخزين الذي حضرت منه الجرعة 15ملغم /كغم (Teixeira *et al*.,2003).

3-5-3:تحضير كروموسومات نخاع العظم Bone Marrow

اعتمدت طريقة Evan's *et al*;1964 في هذا الاختبار وكالاتي:

1-حقن الحيوان ب0.25 مل من محلول الكولجيسين المحضر أنيا في منطقة الغشاء البريتوني Intraperitoneal بعد تعقيم المنطقة بالكحول.

2-بعد مرور ساعتين ونصف ضحي بالحيوان بعملية فصل العنق Cerrical dislocation وشرح ،ثم استأصل عظم الفخذ Femur .

3-قطعت نهايتا عظم الفخذ ثم استخرج المحتوى الخلوي لنقي العظم في انبوبة اختبار باستعمال محقنة طبية 1 مل و5 مل محلول دارى الفوسفات الفسيولوجي .

4-نبذت الخلايا في النابذة بسرعة 2000 دورة /دقيقة مدة 10 دقائق.

5-اهمل الرائق واضيف للراسب 5 مل من محلول واطىء التوتر (محلول كلوريد البوتاسيوم 0.057M) الدافىء وعلقت الخلايا جيدا ثم وضع الانبوبان في حمام مائي بحرارة 37م مدة 30 دقيقة مع المزج كل 5 دقائق.

6-نبذت الخلايا بالنابذة (2000 دورة/دقيقة) مدة 5 دقائق، وأهمل الرائق واضيف الى الراسب 5 مل من محلول التثبيت البارد المحضر انياً بهيئة قطرات قليلة تنسال على جدار الانبوبة .مزجت المحتويات جيدا باستعمال ماصة باستور ووضع الانبوبان في الثلاجة بحرارة 4 م° لمدة 30 دقيقة .

7-اعيدت الخطوة السابقة مرتين وبعدها علقت الخلايا 1-2 مل من المحلول المثبت البارد.

8-اسقطت بضع قطرات من محتويات الانبوبة على شريحة زجاجية نظيفة وباردة وبمعدل 4-5 قطرات بصورة عمودية من ارتفاع 3 اقدام من الشرائح ثم جففت الشرائح على صفيحة ساخنة (45 م°).

9-لونت الشرائح بملون كمزة مدة 15 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر وتركت لتجف .

10-فحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي باستعمال العدسة الزيتية (100x) اذ فحصت 1000 خلية منقسمة وغير منقسمة واستخراج معامل الانقسام على وفق المعادلة الاتية :

معامل الانقسام MI =(عدد الخلايا المنقسمة /العددالكلي للخلايا)×100 (Stich and San 1981)

ولغرض حساب التغيرات الكروموسومية Chromosomal Abrrations تحسب في 100 خلية في الطور الاستوائي وبصورة عشوائية والحاوية على 40 كروموسوما مفصولة بشكل جيد.

4-5-3:فحص النوى الصغيرة : **Micronuclei assay**

لقد تم هذا الفحص على وفق طريقة (Schmid, 1975) وكالاتي:

1-استأصل عظم الفخذ للفأر وقطعت نهايته ثم افرغ محتواه الخلوي باستعمال 3 مل من البلازما البشرية المثبطة حراريا (AB Blood group) في انبوبة اختبار.

2-نبذت الخلايا بالنابذة بسرعة 1000 دورة/دقيقة مدة 10 دقائق.

3-اهمل معظم الرائق وعلق راسب الخلايا بقليل منه ثم عملت مسحة (Smear).

4-جففت الشرائح في درجة حرارة المختبر ووضعت في اناء حاوٍ على الكحول المثيلي لغرض التثبيت مدة دقيقتين.

5-جففت الشرائح ثم لونت بملون كمزا لمدة 10 دقائق وبعد ذلك غسلت بالماء المقطر.

6-بعد ان جفت الشرائح فحصت تحت العدسة الزيتية (100X) وحسبت عدد الخلايا الحاوية على الانوية الصغيرة من بين 1000خلية من نوع الدمية المتعددة الجبيبات Polychromatic erythrocyte(Pce).

6-3:دراسة تأثير المستخلص الكحولي الخام لنبات المعدنوس في بعض الخطوط السرطانية

1-6-3:المحاليل الخاصة بالزرع النسيجي الاساسي والزرع الثانوي

Stock Solution used for tissue culture and subculture

تم تحضير المحاليل تبعاً لطريقة Freshney ؛(2000) الخاصة بالزرع النسيجي .

1-1-6-3:اوساط الزرع النسيجي **Tissue culture media**

1-1-1-6-3:اوساط النمو **Growth media**

1-الوسط الزرعي Rosswel Park Memorial Institute(RPMI 1640)

ويتألف من:

10.4 غم RPM 1640 with heps buffer , L.glutamin

15 غم Sodium bicarbonate (4.4%)

بيكاربونات الصوديوم لتعديل الأس الهدروجيني الى7.4-7.8

0.5 مل Crystilline Penicilline

0.5مل Streptomycin

0.25 مل Nystatin

أكمل الحجم الى واحد لتر بأضافة ماء مقطر وعقم بالترشيح بفلتر نوع نالجين(0.22µm) بظروف معقمة hood.

2- الوسط الزرعي (MEM) Minimum Essential Media

ويتألف من

11غم	MEM(Gibco,Scotland) with L-glutamin
10مل	1مل Hepes buffer (Flow laboratories,Scotland)
2 غم	Sodium bicarbonate
0.5 مل	Benzyl Penicillin
0.5 مل	Streptomycin
0.5 مل	Nystatin

يكمل الحجم الى 1 لتر باستعمال ماء مقطر ويعقم بالترشيح 0.22 µm فلتر

2-1-1-6-3:أوساط الحفظ Maintenance media

يحتوي على جميع مكونات الوسط الزرعي ماعدا المصل البقري

2-1-6-3:طرق تحضير المواد المستخدمة

1-2-1-6-3:طريقة تحضير المضادات الحيوية Antibiotics:

A-1-2-1-6-3:محلول البنسلين Penicillin solution :-

حضر المحلول بأذابة1غم من البنسيلين في 5 مل من الماء المقطر وأضيف 0.5 مل منه الى لتر واحد من الوسط الزرعي.

B-1-2-1-6-3:محلول الستربتومايسين (Streptomysin Solution)

حضر بأذابة1 غم من الستربتومايسين في 5 مل من الماء المقطر ليكون التركيز النهائي 200ملغم / مل أخذ منه 0.5 مل وأضيف الى لتر واحد من الوسط الزرعي

C-1-2-1-6-3:محلول الأنستاتين (Nystatin Solution)

حضر بأخذ ½ حبة من الأنستاتين 500 ملغم وأضيفت الى لتر واحد من الوسط وأذيبت فيه .

2-2-1-6-3: طرق تحضير المحاليل الأخرى المستخدمة في دراسة تأثير المستخلص الكحولي لنبات المعدنوس في بعض الخطوط السرطانية:

A-2-2-1-6-3:محلول دارئ الفوسفات الملحي Phosphate buffer saline (PBS)

حضر على وفق الخطوة (3-5-2-3) انفة الذكر ثم عقم بالموصدة بدرجة حرارة 121 مْ ولمدة 15 دقيقة ثم حفظ في درجة 4 مْ الى حين الأستعمال .

B-2-2-1-6-3:محلول بيكاربونات الصوديوم Sodium bicarbonate solution

حضر المحلول على وفق الخطوة (3-5-2-5) انفة الذكر ثم عقم بالموصدة بدرجة حرارة 121 م° مدة 15 دقيقة وحفظ بدرجة حرارة 4 م° الى حين الأستعمال .

3-6-1-2-2-C:صبغة البنفسج البلوري Crystal Violet

أذيب 5غم من الصبغة في 200 مل من كحول الميثانول الطلق ثم رشحت بورق ترشيح واتمان وأضيف للراشح 50 مليلتر من الفورمالديهايد ذي تركيز37% وأكمل الحجم بالماء المقطر الى 1 لتر (Mather & Roberts 1998) .

3-6-1-2-2-D:التربسين Trypsin

حضر 1 غم من مسحوق التربسين في 100 مل من دارى الفوسفات الفسيولوجي (PBS) المحضر في فقرة (3-5-2-3)،وعقم بالترشيح بأستعمال مرشح بقطر ذي ثقوب بقطر 0.22µm وحفظ بدرجة- 20°م.

3-6-1-2-2-E:الفرسين Versine

أضيف 1غم من مسحوق EDTA (thylene diamine tetra acetic acid disodum) الى 100 مل من الماء المقطر واذيب جيداً ثم عقم بالموصدة 121م° لمدة 10 دقائق،حفظ بدرجة -20 م°.

3-6-1-2-2-F: محلول التربسين-فرسين Trypsin-Versine solution

ويتكون من A-محلول التربسين Trypsin s. 20 مليلتر

B- محلول الفرسين.Versin s 10مليلتر

c- محلول دارى الفوسفات الفسيولوجي PBS 370 مليلتر

مزجت المواد معاً وحفظت عند درجة حرارة 4 مْ لحين الاستعمال.

3-6-1-2-2-G:محلول DMSO

حضر بخلط 0.2 مل من DMSO في 100 مل من الماء المقطر ، ثم عقم بأستعمال مرشح ذي ثقوب بقطر 0.22 مايكرون وحفظ بدرجة حرارة 4 مْ الى حين الأستعمال حيث تم أستخدمة في أذابة المسخاص الأيثانولي الخام للاوراق.

3-6-2:الخطوط الخاوية السرطانية Cancer Cell lines

1-الخط الخاوي السرطاني(Hep-2) Human epidermoid larynx carcinoma

استعمل هذا الخط عند التمريرة رقم (231) وهو خط خلايا سرطان الحنجره لرجل يبلغ من العمر 57 سنة (Toolan, 1954; Moore *etal.*, 1955).ان هذا الخط تم تطبيعه للنمو على وسط RPMI-1640 المجهز بـ 10% من مصل العجل البقري في المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية، وعند تكون الطبقة الاحادية الكاملة (Confluent monolayer) تمت معاملة الخلايا بمحلول التربسين-فرسين وذلك لتهيئة المزرعة الثانوية Subculture .

2-الخط الخاوي السرطاني(HeLa) Henritta Lacks

استعمل هذا الخط عند التمريره (248) وهو خط سرطان الرحم لأمراة تدعى Henritta Lacks سنة ١٩٥١ وهذا الخط تم تطبيعه للنمو على وسط MEM وعند تكون الطبقة الاحادية

الكاملة(Confluent monolayer) تمت معاملة الخلايا بمحلول التربسين-فرسين وذلك لتهيئة المزرعة الثانوية Subculture .

3-الخط الخلوي السرطاني(AMN-3)Ahmed- Mohammed- Nahi-2003

تم استعمال هذا الخط عند التمريره رقم (177) وهو سرطان الغده اللبنية Mammary adenocarcinoma لاناث فئران نوع Balb/c المصابة بسرطان الغدة اللبنية التلقائي (In vivo spontaneous mammary adenocarcinoma) تم استحداث هذا الخط في وسط RPMI-1640 مجهز بـ 10% من مصل العجل البقري، وعند تكون الطبقة الاحادية الكاملة (Confluent monolayer) عومات الخلايا بمحلول التربسين-فرسين لتقسيمها على مزرعة ثانوية اخرى.

3-6-3:تحضير الوسط الزرعي للخطوط الخلوية السرطانية واختبار سمية المستخلص على تلك الخطوط **Preparation of medium of cancer cell lines and test the extraction toxic on cancer cell lines**

1-3-6-3:تحضيرالوسط الزرعي للخطوط الخلوية السرطانية **Preparation of medium of cancer cell lines**

تمت تهيئية الوسط الزرعي وفقآ لـ(Freshney , 2000) بخلط مكوناته مع بعضها البعض لتحضير1 لتر منه ، ومن ثم عقمت بأستعمال مرشح ذي ثقوب 0.22 مايكرون، ثم وزع الوسط الزرعي في قناني زجاجية ذات غطاء محكم سعة 200 مل وحفظت في القناني بدرجة حرارة –20مْ الى حين الأستعمال.

تم الحصول على الخطوط السرطانية من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/ الجامعة المستنصرية .

حيث تم أجراء الخطوات الخاصة بالزرع النسيجي تحت ظروف معقمة كالأتي :

1- أضيف2 مل من محلول التربسين/ فرنسين المحضر في الفقرة(F-2-2-1-6-3) الى قنينة الزرع النسيجي بحجم 25سم^3 الحاوية على الخلايا بعد تفريقها من الوسط الزرعي القديم ثم حركت القنينة برفق وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37م° مدة 15 دقيقة لتفكيك الخلايا الملتصقة وكذلك خلخلة التصاقها بجدار القنينة للحصول قدر الأمكان على خلايا أحادية مفردة.

2- أضيفت الى القنينة الحاوية على الخلايا المتفككة ما يقارب15 مل من وسط نمو جديد (RPMI-1640) وتم تحريك القنينة جيدآ وبعدها أفرغت محتويات القنينة الحاوية على الوسط الزرعي الجديد مع الخلايا الى قنينة أخرى جديدة بحيث يكون مستوى الوسط الزرعي مع الخلايا متساو بين القنينتين أي كل قنينة وضع فيها نفس الحجم تقريباً من الوسط الزرعي مع الخلايا وتسمى هذه العملية بالمزرعة الثانوية (Subculture) .

3-حضنت القناني بدرجة حرارة 37م° مدة يومين فيما يخص Hep-2 وخمسة أيام للAMN-3 (الطبيعة الوغارتمية لنمو الخلابا) (فريق عمل المركز العراقي لأبحاث السرطان والوراثة الطبية)، بعد أن كتب عليها معلومات كاملة عن نوع الخلايا ونوع التمريرة الجديدة (New passage) وتم أجراء المزرعة الثانوية، وتمت متابعة القناني يوميا للتأكد من خلوها

من أي تلوث وأن الخلايا بحالة جيدة وذلك بفحصها بواسطة المجهر المقلوب(Inverted microscope) وعندما يصبح النمو داخل القنينة جيدآ فأن الخلايا تكون جاهزة للأستعمال.

2-3-6-3:أختبار سمية المستخلصات الخام لنبات المعدنوس على تكاثر الخطوط السرطانية

أذيب 0.1غم من المستخلص الايثانولي الخام للاوراق النباتية المحضر على وفق الفقرة (3-2-2) في 10 مل من المذيب [٩ مل PBS+١ مل (Dimethyl sulfoxid (DMSO]، ثم عقم المستخلصان بأستعمال مرشح ذي ثقوب 0.22 مايكرون وحضرت منه ستة تراكيز هي (6000, 8000, 10000, 12000, 14000, 16000) مايكروغرام/مليلتر، وتحت ظروف معقمة، أستعملت جميع التراكيز المحضرة مباشرة بعد إكمال عملية التحضيروحسب الخطوات التالية.

أ-جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة الزرع النسيجي حجم 25 $سم^3$ بمحلول التربسين/فرسين بعد تفريغ الوسط الزرعي القديم وتحريك القنينة برفق، ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 °م مدة15 دقيقة، ثم أضيف له 20 مل وسط النمو المحضر في الفقرة(3-6-1-1-1)،أستعمل وسط النمو (RPMI 1640) لكل من خلايا الخطين السرطانيين Hep-2 وAMN-3 وأستعمل وسط النمو MEM لخلايا الخط السرطاني Hela ثم تم مزج عالق الخلايا جيدآ وتم نقل 0.2 مل بعد كل مزجة جديدة الى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذي القعر المسطح Microtiter plate for tissue culture بأستعمال ماصة أوتوماتيكية دقيقة.

ب-تترك الطبق في الحاضنة بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة الى حين التصاق الخلايا في الحفرة، بعدها تم التخلص من الوسط الزرعي القديم في الحفرة وتم أضافة 0.2 مل من التراكيز المحضرة سابقا في كل حفرة وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز. تم عمل ثلاث مكررات للسيطرة(خلايا فقط) مضاف لها وسط زرعي خالٍ من المصل Free media.

ج-بعد مرور 24 ساعة أخرج الطبق من الحاضنة وأضيف إليه محلول صبغة البنفسج البلوري لجميع الحفر الحاوية على الخلايا بمقدار0.2 مل لكل حفرة وكررت الخطوة نفسها بعد فترة حضن 48 و72ساعة.

د-أعيد الطبق مرة ثانية الى الحاضنة ليحضن مدة نصف ساعة ،وبعدها أخرج الطبق وأزيلت محتوياته وغسلت الخلايا بمحلول (PBS) الى حين زوال الصبغة الزائدة أذ أن الخلايا الحية تأخذ الصبغة أما الميتة فلا تأخذها.

هـ- قرأت النتائج بأستعمال ELISA بطول موجي492 نانومتر.

و-أجريت الخطوات السابقة على كل من الخطوط السرطانية الثلاث،HeLa, Hep-2 وAMN-3 بأستعمال الستخاص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس.

ز-تم حساب نسبة التثبيط لكل تركيز .

التحليل الأحصائي

حللت النتائج أحصائياً باتباع التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) ولمعرفة فيما أذا كانت الفروقات بين المعاملات معنوية أم لا ، بأستعمال أختبار دنكن متعدد الحدود (Duncun multiple test) وبأستعمال البرنامج الأحصائي الجاهزSPSS (العقيلي والشايب،1998).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

1-4 :الأستخلاص

تم الحصول على وزن 35 ملغم من (50 غم) من مسحوق بذور نبات المعدنوس بعد استخلاصها في الكحول الاثيلي 80%والتي تقدر بنسبة استخلاص (14.29%) في حين تم الحصول على وزن 42 ملغم من (50غم) من مسحوق أوراق النبات بعد استخلاصها أي بنسبة استخلاص (11.9%) وكان المستخلصان ذوا لون اخضر داكن مائل الى السواد وذي لزوجة وهذه ما اشارت اليه دراسة التميمي، (2007) اذ وجدت ان نسبة استخلاص بذور الكرفس *Apium graveolens* في المستخلص الكحولي الاثيلي 95% تساوي (9.816%) بينما في المستخلص الكحولي المثيلي 95% كانت(10.27%) وللأوراق النباتية كانت(13.2%,16.80%) لكل من المستخلص الايثانولي والميثانولي على التوالي ، وهذه النسبة اعلى مما حصلت عليهاالسعدي(2008)آذ كانت نسبة الاستخلاص لنبات المديد *Convolvulus arvensis* 0.06%.

2-4: الكشف عن أهم المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي الخام لبذور وأوراق نبات المعدنوس :-

أظهرت نتائج التحليل والكشوفات الكيميائية الاستدلالية للمستخلص الكحولي الخام لبذور وأوراق نبات المعدنوس ،ان بذور المعدنوس تحتوي على والفلافونويدات والكلايكوسيدات والسترويدات جدول (4-1) ،بينما وجدت المركبات الصابونيات والقلوديات والكلاكوسيات والتربينات والسترويدات والراتنجيات والفلافويندات التي تعد من المركبات الفعالة في أوراق نبات المعدنوس وهذا ما اشارت اليه دراسة التميمي(2007) على نبات

الكرفس و السعدي،(2008) كما اشارت نتائج دراسة Zheng وجماعته ،(2006) بوجود التربينات الأحادية Monoterepene في نبات الكرفس .

إن وجود الفلافونيدات Flafvonoides في المستخلص الكحولي الاثيلي لبذور واوراق نبات المعدنوس التي اثبت الدراسات فعاليتها البايولوجية والفسيولوجية العالية عند إعطائها عن طريق الفم والتي تعمل كمواد مضادة للأكسدة Antioxidants التي تحمي خلايا اللبائن من الجذور الحرة للأوكسجين Free Oxygen والتـــــــي تعمل على إزالتها (Nakayama *etal*,2002,2003).

جدول(4-1):أهم المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لبذور واوراق نبات المعدنوس

ت	المركب الكيمياوي	الكاشف المستخدم	دليل الكشف	النتيجة	
				البذور	الأوراق
1	القلويدات	دراجندروف	راسب بني	-	+
2	الفلافونات	KOHمع الكحول الاثيلي	راسب اصفر	+	+
3	التربينات و السترويدات	كلوروفوم + حامض الخليك +قطرة حامض الكبريتيك المخفف	لون بني فاتح لون ازرق داكن بعد يوم	- +	+ +
4	التأنينات	خلات الرصاص1% كلوريد الحديديك	راسب ابيض هلامي اخضر مزرق	-	+
5	الصابونيات	رج المستخلص الكحولي	رغوة تبقى مدة	-	+
6	الراتنجيات	كحول اثيلي +ماء محمض بالـ Hcl 4%	العكورة	-	+
7	الكلايكوسيدات	بندكت	راسب احمر	+	+

العلامة (+) تدل على ايجابية الكشف

العلامة (-)تدل على سلبية الكشف

3-4: التأثير الوراثي الخلوي للمستخلص الكحولي الخام لبذور وأوراق نبات المعدنوس

1-3-4:تأثير المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس في خلايا نقي العظم للفئران المختبرية .

1-1-3-4 : تأثير المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس في مؤشر انقسام الخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية .

يوضح جدول (4-2) تأثير المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس في معامل الانقسام Mitotic index لخلايـــــــــــا نقي العظم Bone marrow cells في الفئران المختبرية ، آذ يلاحظ حصول تثبيط في معامل انقسام الخلايا في فئران السيطرة الموجبة المعاملة بعقــــــار سايكلوفوسفوامايد بتركيز 10 ميكروغرام/مل مقارنة بالسيطرة السالبة (الفئران غير المعاملة) وقد أكد التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي($P < 0.05$)؛ إن انخفاض هذا المعامل دليل على التأثير السمي والتطفيري للعقار الذي يستخدم بشكل واسع كمضاد للسرطان والذي يحصل له تنشيط تأيضي بدائي إلى 4-(4.0H-CP) hydroxycyclophoamid لتظهر فعالية. يمتاك عدة إشكال تأيضه أخرى مثل Phsphoamid mustard (PAM) و Aldophosphamid (ALP) (Kown,*etal*;1987).

جدول(4-2): تأثير المستخلص الكحولي لبذور نبات المعدنوس في مؤشر انقسام الخلايا الجسمية للفئران المختبرية.

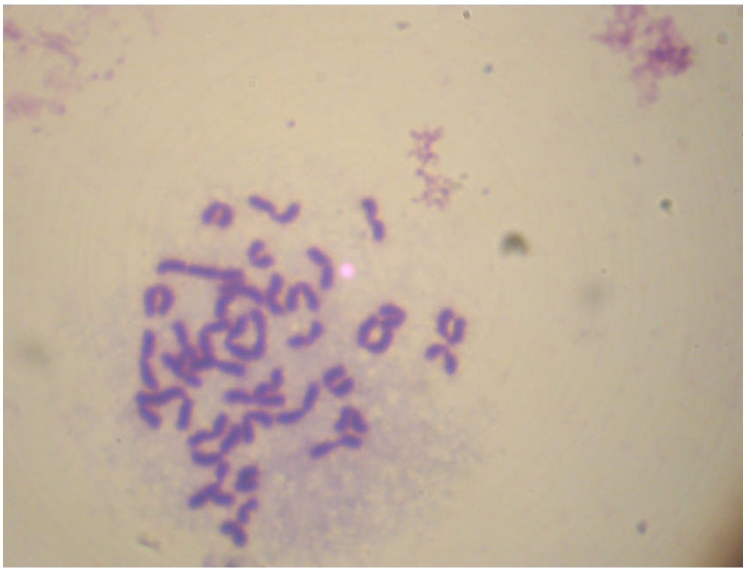
الفترة	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم
المجاميع	SE± µ	SE± µ	SE± µ	SE ± µ
السيطرة السالبة	A,a 0.33 ±9.16	A,a 0.33±9.16	A,a 0.33 ±9.16	A,a 0.33 ±9.16
السيطرة الموجبة	B,a 0.21±3.93	B,a 0.21±3.93	B,a 0.21±3.93	B,a 0.21 ±3.93
250 ملغم/كغم	A,a 0.06±8.16	A,a 0.06 ±7.65	AC,ab 0.06±7.19	BC,b 0.06±4.96
500 ملغم/كغم	A,a 0.05 ±9.14	A,a 0.05±9.14	C,b 0.06 ±6.43	C,b 0.06 ±5.64
1000ملغم/كغم	A,a 0.05 ±9.10	A,a 0.05 ±6.60	A,a 0.05±6.65	C,b 0.05±5.64
2000 ملغم/كغم	A,a 0.05 ±9.26	A,a 0.05 ±9.75	A,ab 0.05 ±6.15	C,b 0.07 ±6.34

الأحرف المختلفة (A,B) تعني وجود فرق معنوي(p‹0.05) للمقارنة بين الأسطر والأحرف المختلفة (a,b) تعني وجود فرق معنوي (P‹ 0.05) للمقارنة بين الاعمدة

µ = المتوسط ، SE = الخطأ القياسي .

اما من ناحية ارتباط العقار بالـ DNA فقد توصل Pieper وجماعته (1986) إلى أن العقار له قابلية على الارتباط التساهمي مع N^7 بقاعدة الكوانين Guanine وبالتالي إيقاف الاستنساخ في هذا الموقع بتأثير القنوات المتكونة بين العقار وشريط بالـDNA إما Lugoوجماعته(1989) فقد أشار إلى قابلية العقار على استحثاث التبادل الكروماتيدي الشقيق Sister chromatid exchange (SCE) في نقي العظم للفئران في دورتين خلويتين وان موقع التبادل مرتبط مع وحدة التضاعف الفعالة وهذه النتائج تتفق مع دراسة Ataya وجماعته 1989 التي تشير إلى تأثير عقار السايكلوفوسفوامايد يعمل على تثبيط معامل انقسام خلايا نقي العظم للجرذ . كما يتضح من جدول (4-2) حصول انخفاض في معامل الانقسام الخلوي لخلايا نقي العظم للفئران المعاملة المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس لجميـع الجرع (2000,1000,500,250) ملغم/كغم اذ أظهرت الجرعة 250 ملغم/كغم فرقا معنويا($P < 0.05$) مقارنة بالسيطرة السالبة وبالأخص بعد الأسبوع الثالث والرابع ، وكذلك الحال مع الجرعة 500 ملغم /كغم في حين أظهرت 1000 ملغم/كغم فرقا معنويا($P<0.05$) بالمقارنة مع السيطرة السالبة للأيام 28,21,14 من التجريع ، أظهرت الجرعة 2000 ملغم /كغم انخفاضا ذا دلالة معنوية ($P < 0.05$)،للأيام 28,21 آذ كان (6.15 و 6.34) على التوالي و يوضح الشكل(4-1) خلية لنخاع العظم في احد الفئران المختبرية منقسمة ومتوقفة عند الطور الاستوائي metaphase كما إن المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس يمتلك فعلاً تثبيطياً لانقسام الخلوي ، فيمنع أو يقلل من عدد الخلايا الداخلة في الأطوار المختلفة من الانقسام وهذا ما أشارت اليه دراسة (Ghareeb and George؛ 1997) ، آو قد يطيل من فترة الطورS-phase أو يسبب في تاف أو ضعف في الطور S (Saggoo *etal.*,1991) ، كما ويمكن ان يفسر إلى أن ما يحتويه المستخلص من المركبات أو نواتجها

الأيضية التي تعمل على تنشيط تصنيع البروتين لمرحلة الانقسام الفعلي active division آو منع إزالة حلزنـ ـة بالـ (DNA) اللازمة للاستنساخ (mRNA) الخاص ببناء بروتين آو تجميـ ـ ـع بروتينات tubuline التي تشكل خيـوط المغزل (Mercykutty and Stephan ,1984) مما يعني أن المستخلص الكحولي بتراكيزه المعتمدة تؤثر على جهاز مغزل الانقسام آو مكوناته لذا يمكن اعتبار هذه المركبات التي تؤثر على بروتين الانيبيبات الدقيقة microtubule المكونة لخيـ ـ ـ ـ ـوط انقسام المغزل ومن مثلها المـ ـ ـ ـ ـ ـ ـواد Vinblastine , Colchicine , Toxol بأنها مضادات الخلايا السرطانية (Huang .*etal*.,2002)



شكل(4-1):يوضح خلية نخاع العظم في احد الفئران المختبرية منقسمة ومتوقفة عند الطور الاستوائي metaphase (Giemsa¡100×).

2-1-3-4:تأثير المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس في تشكيل النوى الصغيرة لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية

يوضح جدول (3-4) تأثير المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس في تشكيل النواة الصغيرة لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية ،اذ كان تشكيل النواة الصغيرة للعينة القياسية (السيطرة السالبة)هو1.50 ± 0.31 ، في حين ارتفعت النسبة في العينة القياسية (السيطرة الموجبة)الى5.70 ± 0.49 ويوضح الشكل (٤-٢) تشكيل النواة الصغيرة Micronucleus لخلية من نخاع العظم في احد الفئران المختبرية المعاملة بالسايكلوفوسفوامايد عند السيطرة الموجبة، وقد أكد التحليل وجود فرق معنوي بين السيطرة السالبة والموجبة ($P < 0.05$) ، كما يبين الجدول (3-4) انخفاض قيم معدل تشكيل النواة الصغيرة في الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لبذور نبات المعدنوس ولمختلف الجرع (250, 500, 1000, 2000) ملغم/كغم وخلال ايام التجريع (28,21,14,7) يوم مقارنة بالعينة القياسية (السيطرة السالبة) اذ تراوحت النسبة بين (0.90-1.63%)، وهذ ما اشارت اليه دراسة النعيمي،2007 اذ لاحظت انخفاض معدل تكوين النوى الصغيرة لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية المجرعة بالمستخلص الأيثانولي لنبات الكبر *Capparis spinosa* والمستخلص الميثانولي لنبات الحميض *Rumex acctosella* والتي ترجع الى قلة حصول التغيرات الكروموسومية بسبب وجود quercetin,rutin والتي تمنح حماية لل‍ـ (DNA) من الإضرار ، او من خلال فعالية الفيتامينات الفعالة والتي تتميز نبات المعدنوس بوفرتها مثل فيتامين E,A والتي تعمل كمواد مضادة للاكسدة antioxdant (Nielsen *et al.*,1999)أو لقابليه مركبات المستخلصات في الإزالة السمية (detoxification) أو مضادة للتطفير.

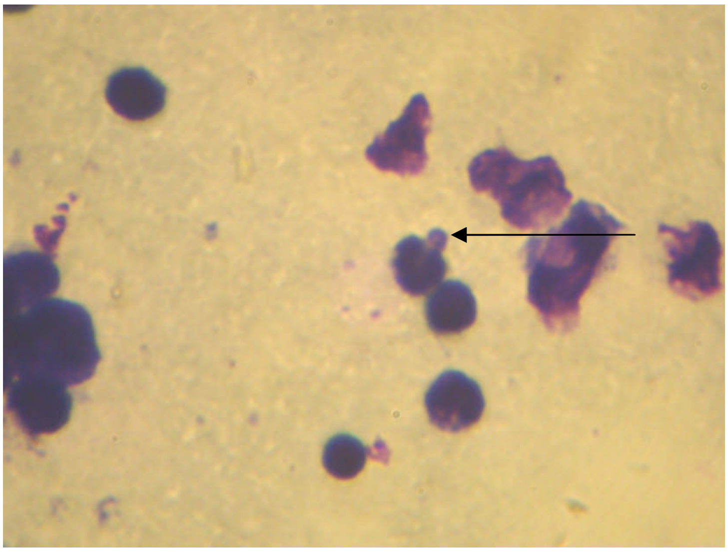
جدول (3-4) تأثير المستخلص الكحولي لبذور نبات المعدنوس في تشكيل النوى الصغيرة للفئران المختبرية .

الفترة	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم
المجاميع	SE ± µ	SE ± µ	SE ± µ	SE ± µ
السيطرة السالبة	A,a 0.31 ±1.50	A,a 0.31 ±1.50	A,a 0.31±1.50	A,a 0.31 ±1.50
السيطرة الموجبة	B,a 0.49±5.70	B,a 0.49 ±5.70	B,a 0.49 ±5.70	B,a 0.49±5.70
250ملغم/كغم	A,a 0.03±1.63	A,a 0.05 ±1.20	A,a 0.08±1.10	A,a 0.08 ±1.00
500 ملغم/كغم	A,a 0.05 ±1.40	A,a 0.06 ±1.20	A,a 0.06±1.10	A,a 0. 07±1.10
1000ملغم/كغم	A,a 0.06±1.63	A,a 0.05 ±1.30	A,a 0.07 ±1.00	A,a 0.07±1.00
2000 ملغم/كغم	A,a 0.07±1.30	A,a 0.07 ±1.15	A,a 0.05 ±1.00	A,a 0.06 ±0.90

الأحرف المختلفة (A,B) تعني وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) للمقارنة بين الأسطر

الأحرف المختلفة (a,b) تعني وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) للمقارنـــــــــة بين الاعمدة µ = المتوسط ، SE = الخطأ القياسي.

ومن ما تقدم نستنتج عدم وجود دور سلبي للمركبات الرئيسة في المستخلص الايثانولي الخام لبذور المعدنوس على رفع المستوى التلقائي لتشكيل النواة الصغيرة لخلايا نقي العظم ، آو لقلة التغيرات الكروموسومية الحاصلة والتي تؤدي إلى ظهور قطع مركزية Centromeres غير طبيعية لكروموسومات خالية من القطع المركزية لديها القدرة على التحام نهايتها وتشكيل نوى صغيرة الحجم .



شكل(4-2):يوضح تشكيل النوى الصغيرة Micronuclei لخلية من نخاع العظم في احد الفئران المختبرية المعاملة بالسايكلوفوسفوامايد (×100؛Giemsa).

3-1-3-4: قابلية المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس في استحثاث التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية .

يلاحظ من الجدول رقم (4-4) أن معدل التغيرات الكروموسومية ممثلة بالكسر (الكروماتيدي والكروموسومي) للخلايا الجسمية لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية

ارتفع معنويا عند تجريع الفئران سايكلوفوسفوامايد (السيطرة الموجبة) ، عند المقارنة بالحيوانات غير المجرعة (السيطرة السالبة) ،حيث أصبـح (3.40 ± 0.05) و(3.20± 0.05) لكل من الكسر الكروماتيدي والكروموسومي على التوالي ،في حين كان للعينة القياسية السيطـ ـرة السالبة(1.40±0.30) و(1.60 ±0.320) لكلا من الكسر الكروموتيدي و الكروموسومي على التوالي وهي اقل من ذلك بكثير ، ويوضح شكل(4-3) التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم في الفأر المعاملة بالسايكلوفوسفوامايد و من المعروف ان عقار سايكلوفوسفوامايد من المواد ذات الفعل التطفيري Mutagenesis او المسرطن Carcinogenesis بسبب ارتباطه او متأيضاته مع المادة الوراثية بالـ(DNA) والتي تؤدي الى حصول كسور في أشرطة الـ (DNA) وبالتالي تعمل على إعاقة تضاعف المادة الوراثية خلال دورة الخلية (S-phase) او في عمل cross-linking بين أشرطة الـ(DNA) وبالتالي تؤدي إلى إحداث التغيرات الكروموسومية (Auler, 1976) ، لذا اختلفت السيطرة السالبة عن السيطرة الموجبة اختلافا معنويا ($P < 0.05$) ، كما يلاحظ انخفاض معدل التغيرات الكرموسومية الكسر الكروماتيدي والكسر الكروموسومي بمرور الزمن ابتداءا من الأسبوع الأول وحتى الأسبوع الرابع ولجميع الجرع (2000,1000,500,250) ملغم /كغم ، إلا إن هذه التغيرات طفيفة مقارنة بالسيطرة السالبة ولم يلاحظ وجود فروق معنوية لتلك التغيرات خلال مدة إجراء التجربة .

جدول (4-4) المتوسط ± الخطأ القياسي لمعدل التغيرات الكروموسومية لتأثير المستخلص الكحولي لبذور نبات المعدنوس في الخلايا الجسمية للفئران المختبرية :-

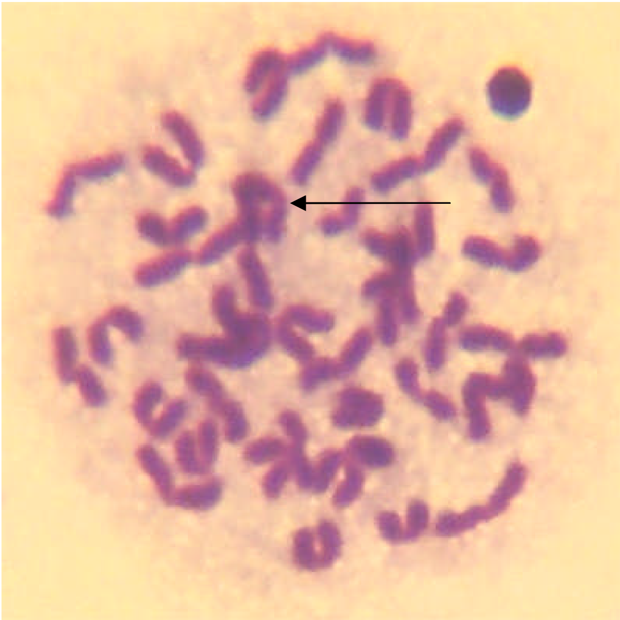
	الكسر الكروماتيدي				الكسر الكروموسومي			
الفترة	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم
السيطرة السالبة	SE µ±	SE± µ	SE ± µ	SE± µ	SE ± µ	SE ± µ	SE ± µ	SE± µ
	A,a 0.370±1.60	A,a 0.0370 ± 1.60	A,a 0.037±1.60	A,a 0.0370 ±1.60	A,a 0.30±1.40	A,a 0.30±1.40	A,a 0.30±1.40	A,a 0.30 ±1. 40
السيطرة الموجبة	B,a 0.55 ±3.40	B,a 0.55±3.40	B,a 0.55 ±3.40	B,a 0.55±3.40	B,a 0.57±3.20	B,a 0.57±3.2	B,a 3.20±0.57	B,a 0.57 ±3.20
250ملغم/كغم	A,a 0.06±1.70	A,a 0.05±1.50	A,a 0.03±1.40	A,a 0.06±1.30	A,a 0.05±1.60	A,a 0.05±1.50	A,a 0.06±1.40	A,a 0.05±1,30
500ملغم/كغم	A,a 0.06±1.40	A,a 0.06 ±1.30	A,a 0.06±1.20	A,a 0.07 ±0.90	A,a 0.05±1.30	A,a 0.06±1.20	A,a 0.06±1.10	A,a o.05±0.90
1000ملغ/كغم	A,a 0.06±1.40	A,a 0.06±1.40	A,a 0.06±1.10	A,a 0.05±0.90	A,a 0.05±1.10	A,a 0.05±1.10	A,a 0.05±1.00	A,a 0.05±0.80
2000ملغم/كغم	A,a 0.06 ±1.00	A,a 0.06 ±1.00	A,a 0.05 ±1.00	A,a 0.07±1.00	A,a 0.05±1.00	A,a 0.05 ±0.9	A,a 0.05±0.90	A,a 0.05±0.80

الأحرف المختلفة (A,B) تعني وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) للمقارنة بين الأسطر

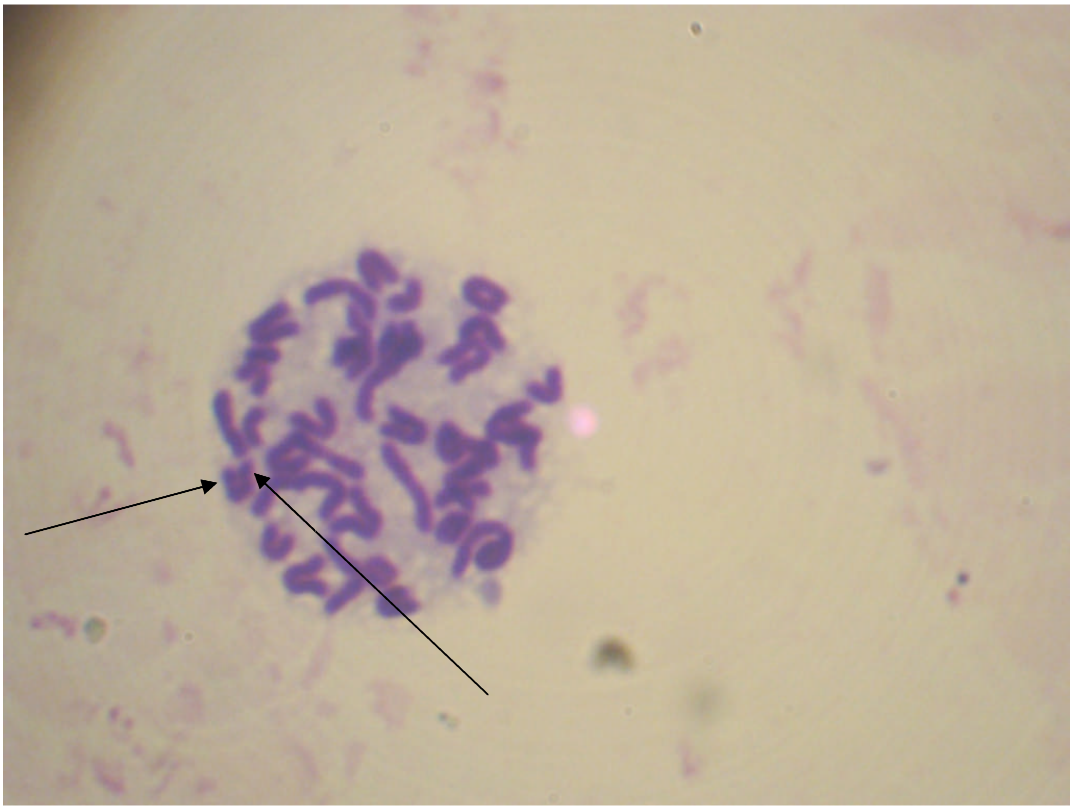
الأحرف المختلفة (a,b) تعني وجود فرق معنوي ($P < 0.05$) للمقارنـــــة بين الأعمدة

µ = المتوسط ، SE = الخطأ القياسي.

إن التغيرات الكروموسومية يمكن ان تحدث ذاتيـا Spontaneous والتي تكون ضمن كفاءة أنظمة الإصلاح Repair systems في الخلايا ، ويمكن ان تحدث نتيجة لعوامل قد تؤثر في الطبيعة التركيبية للكروموسومات او على ميكانيكية حركة الانقسام او أنزيماتها (Au and Zhu,1990) ومن هنا يتضح أن المستخلص الكحولي الخام لبذور المعدنوس لا يعد من المواد المطفرة Mutagenic agents والتي تتضح من خلال عدم قدرته على استحثاث التغيرات الكروموسومية .



(أ):يوضح الكسر الكروماتيدي



(ب):يوضح الكسر الكروموسومي

شكل(4-3):يوضح التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم في الفأر المعاملة

بالسايكلوفوسفوامايد (×100¡Giemsa).

4-3-2: تأثيرالمستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات المعدنوس في خلايا نقي العظم للفئران المختبرية :-

4-3-2-1: تأثيرالمستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات المعدنوس في معامل انقسام خلايا نقي العظم في فئران المختبرية :-

جدول (4-5) يبين تأثير المستخلص الكحولي الخام للنبات على معامل الانقسام الخيطي وللجرع (2000,1000,500,250) ملغم /كغم وللأيام 28,21,14,7 يوماً من بعد المعاملة نلاحظ ان معامل الانقسام هو (9.16%) في السيطرة السالبة في حين يلاحظ ان انخفاض هذا المؤشر على السيطرة الموجبة للفئران المعاملة بالمطفر سايكلوفوسفوامايد (3.93%) كدليل على التأثير السمي والتطفيري له وكان مستوى الاختلاف معنويا($P < 0.05$) في المقارنة بيـن العينتيـن وهذا ما أشارت اليه التأثيرات السمية والتطفيرية للمطفر سايكوفوسفوامايد على خلايا اللبائن من خلال خفضه لمعامل الانقسام (Ataya *etal* ., 1989). اما الفئران المعاملة بالجرع الأربع للمستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات المعدنوس يلاحظ ارتفاع القدرة التثبيطية للمستخلص الكحولي للمعدنوس للجرع 500,250 ملغم /كغم للأيام 28,21 عند المقارنة مع العينة القياسية (السيطرة السالبة) آذ أعطت فرقا معنويا والاحتمالية ($P < 0.05$) في حين لم يلاحظ وجود اختلاف معنوي للأيام14,7 من التجريع للجرعتين أعلاه ،لم يلاحظ وجود اختلاف معنـ ـ ـ ـوي للجرع 2000,1000 ملغم /كغم مقارنة بالعينة القياسية (السيطرة السالبة) للأيام 21,14,7 لكن يلاحظ وجود اختلاف معنوي ($P < 0.05$) مقارنة بالسيطرة السالبة خلال الاسبوع الرابع من المعاملة($P<0.05$) لهاتين الجرعتين .

جدول(**4-5**):تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس في مؤشر انقسام الخلايا الجسمية للفئران المختبرية

الفترة	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم
المجاميع	SE± µ	SE± µ	SE± µ	SE ± µ
السيطرة السالبة	A,a 0.33 ±9.16	A,a 0.33±9.16	A,a 0.33 ±9.16	A,a 0.33 ±9.16
السيطرة الموجبة	B,a 0.21±3.93	B,a 0.21±3.93	B,a 0.21±3.93	B,a 0.21 ±3.93
250 ملغم/كغم	A,a 0.46±8.54	A,a 0.46±8.54	AC,ab 0.45±7.09	BC,b 0.33±4.96
500 ملغم/كغم	A,a 0.42 ±9.14	A,a 0.42±9.14	C,b 0.52 ±6.38	C,b 0.37 ±5.28
1000ملغم/كغم	A,a 0.36 ±9.60	A,a 0.36 ±9.60	A,a 0.51±8.20	C,b 0.37±5.52
2000 ملغم/كغم	A,a 0.36 ± 9.75	A,a 0.36 ±9.75	A,ab 0.52 ±7.94	C,b 0.36 ±6.14

الأحرف المختلفة (A,B) تعني وجود فرق معنوي (P<0.05) للمقارنة بين الأسطر الأحرف المختلفة (a,b) تعني وجود فرق معنوي (P<0.05) للمقارنـــــــــــة بيـــــن الأعمدة µ = المتوسط ، SE = الخطأ القياسي .

2-2-3-4: -قابليةالمستخلص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس في تشكيل النوى الصغيرة لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية :-

بين جدول (4-6) مقارنة لتشكيل النوى الصغيرة لكل من الفئران غير العاملة (السيطرة السالبة) والفئران المعاملة بعقار سايكلوفوسفوامايد (السيطرة الموجبة) والفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس لخلايا نقي العظم ، يتضح حصول زيادة في معدل تشكيل النوى الصغيرة واختلفت السيطرة السالبة عن السيطرة الموجبة اختلافا معنويا عاليا($P < 0.05$) اذ ان السايكلوفوسفوامايد والذي يستعمل لمعالجة بعض حالات السرطان هو عامل يتطلب تحولاً ايضياً ليصبح فعالا بايولوجيا ويمتلك عدة إشكال تايضه وهي(4-OHCP)و(PAM)و(ALP) جميع هذه الإشكال التايضية ترتبط بالـ DNA من خلال الارتباط التساهمي مع مجموعة N^7 الخاصة بقاعدة الكوانين ،إما تأثيراته على خلايا اللبائن فانه يؤثر في أشرطة بالـDNA إثناء التضاعف مؤديا الى حدوث تغيرات كروموسومية وبمعدلات عالية . كما يلاحظ حدوث انخفاض في معدل تشكيل النوى الصغيرة لجميع الجرع مقارنة بالسيطرة السالبة للأيام (28,21,14,7) يوماً الا ان هذه التغيرات طفيفة لم تظهر نتائج التحليل الى وجود اختلاف معنوي ($P > 0.05$) .

جدول (4-6): تأثير المستخاص الكحولي لنبات المعدنوس في تشكيل النوى الصغيرة للفئران المختبرية .

الفترة	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم
الحالة	SE ± µ	SE ± µ	SE ± µ	SE ± µ
السيطرة السالبة	A,a 0.31 ±1.50	A,a 0.31 ±1.50	A,a 0.31±1.50	A,a 0.31 ±1.50
السيطرة الموجبة	B,a 0.34±5.70	B,a 0.34 ±5.70	B,a 0.34 ±5.70	B,a 0.34±5.70
250ملغم/كغم	A,a 0.03±1.63	A,a 0.05 ±1.20	A,a 0.08±1.10	A,a 0.08 ±1.00
500 ملغم/كغم	A,a 0.27 ±1.40	A,a 0.30 ±1.20	A,a 0.29±1.10	A,a 0. 23±1.10
1000ملغم/كغم	A,a 0.30±1.63	A,a 0.30 ±1.30	A,a 0.30 ±1.00	A,a 0.26±1.00
2000 ملغم/كغم	A,a 0.27±1.40	A,a 0.25 ±1.20	A,a 0.28 ±1.00	A,a 0.24 ±0.90

الأحرف المختلفة (A,B) تعني وجود فرق معنوي (P<0.05) للمقارنة بين الأسطر الأحرف المختلفة (a,b) تعني وجود فرق معنوي (P<0.05) للمقارنـــــــــــــة بيـــــن الاعمدة

µ = المتوسط ، SE = الخطأ القياسي

إن تشكيل النوى الصغيرة ربما ناتجة عن حالات غير الطبيعية في انقسام القطع المركزية Centromeres للكروموسومات او ناتجة بسبب إضرار بالـ DNA تقود الى عدم فعالية القطع المركزية والى عدم تشكيل المغزل وهذه تتفق مع نتائـج كل من (Kasahara *,etal.*,1992) و(Takada,*etal.*,2003) والتي تفسر ظهور قطع كروموسومية خالية من القطع المركزية لديها القدرة على التحام نهاياتها لتكوين تشكيلات كروية تشبه النواة بحجم صغير جدا وهنا تظهر نتيجة الفعالية العالية لمقدرة السايكلوفوسفوامايد على إحداث مثل هذه الحالات في حين يلاحظ ان المستخلص الكحولي نبات المعدنوس ليس لديه التأثير السلبي لإحداث مثل هذه التغيرات وتشكيل نوى صغيرة اعلى من المستوى الطبيعي لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية .

3-2-3-4: قابليةالمستخلص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس في استحثاث التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية

جدول (4-7) يوضح التغيرات الكروموسومية ممثلة (بالكسر الكرموماتيدي والكسر الكروموسومي)،ان معدل التغيرات الكروموسومية للقيمة القياسية (السيطرة السالبة) هي(1.60% و 1.40%) لكل من الكسر الكروماتيدي والكروموسومي وهذه القيمة تمثل معدل التغيرات الكروموسومية التلقائية وعند استعمال المطفر سايكلوفوسفوامايد في السيطرة الموجبة بتركيز (10) مايكرو غرام /مل ارتفعت هذه التغيرات الى (3.40 %) كدليل على التأثير السمي التطفيري لهذا العقار واختلاف جوهريا عن معدل التغيرات الكروموسومية في العينة القياسية السيطرة السالبة الاحتمالية ($P < 0.05$) .

جدول (4-7) المتوسط ± الخطأ القياسي للتغيرات الكروموسومية في الخلايا الجسمية للفئران المعاملة بالمستخاص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس .

	الكسر الكروماتيدي				الكسر الكروموسومي			
الفترة	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم	7أيام	14يوم	21يوم	28يوم
السيطرة السالبة	SE µ±	SE± µ	SE ± µ	SE± µ	SE ± µ	SE ± µ	SE ± µ	SE± µ
	A,a 0.039±1.60	A,a 0.039 ± 1.60	A,a 0.039 ±1.60	A,a 0.039 ±1.60	A,a 0.30±1.40	A,a 0.30±1.40	A,a 0.30±1.40	A,a 0.30 ±1. 40
السيطرة الموجبة	B,a 0.42 ±3.40	B,a 0.42±3.40	B,a 0.42 ±3.40	B,a 0.42±3.40	B,a 0.43±3.20	B,a 0.43±3.20	B,a 3.20±0.43	B,a 0.43 ±3.20
250ملغم/كغم	A,a 0.30±1.70	A,a 0.37±1.50	A,a 0.30±1.40	A,a 0.30±1.30	A,a 0.21±1.60	A,a 0.22±1.50	A,a 0.27±1.40	A,a 0.30±1.30
500ملغم/كغم	A,a 0.27±1.40	A,a 0.30 ±1.30	A,a 0.29±1.20	A,a 0.23 ±0.90	A,a 0.21±1.30	A,a 0.29±1.20	A,a 0.08±1.10	A,a o.23±0.90
1000ملغ/كغم	A,a 0.26±1.40	A,a 0.26±1.40	A,a 0.23±1.10	A,a 0.18±0.90	A,a 0.18±1.10	A,a 0.18±1.10	A,a 0.15±1.00	A,a 0.20±0.80
2000ملغم/كغم	A,a 0.26 ±1.00	A,a 0.21 ±1.00	A,a 0.21 ±1.00	A,a 0.21±1.00	A,a 0.21±1.00	A,a 0.23 ±0.90	A,a 0.18±0.90	A,a 0.20±0.80

الأحرف المختلفة (A,B) تعني وجود فرق معنوي ($P<0.05$) للمقارنة بين الأسطر الأحرف المختلفة (a,b) تعني وجود فرق معنوي ($P<0.05$) للمقارنـــــــــــة بيـــن الاعمدة

µ = المتوسط ، SE = الخطأ القياسي .

في حين يلاحظ خفض معدل التغيرات الكروموسومية ممثلة (بالكسر الكروموماتيدي والكروموسومي) ولجميع الجرع (2000,1000,500,250) ملغم/ كغم ولجميع الأيام مقارنة بالسيطرة السالبة وكان اعلي معدل انخفاض عند الأسبوع الثالث والرابع من المعاملة ولجميع الجرع اذ كان (0.90,1.00,1.10,1.20) للجرع (2000,1000,500,250) ملغم / كغم وعلى التوالي خلال الأسبوع الثالث من المعاملة للكسر الكروموسومي وحصلت زيادة في معدل الانخفاض في الأسبوع الرابع وكان (0.80,0.80,0.90,1.30) للجرع ملغم / كغم وعلى التوالي يبين التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية مقارنة بالسيطرة السالبة وكذاك الحال مع الكسر الكروموسيومي إذ يلاحظ كفاءة التراكيز (2000) ملغم /كغم في خفض معدل التغيرات الكروموسومية ممثلة (بالـكسر الكروماتيدي والكروموسومي) مقارنة ببقية الجرع الثلاث الأخرى .مما يبن كفاءة المستخاص الكحولي في القدرة على تثبيط هذه التغيرات التي قد تؤدي زيادتها اعلى من كفاءة أنظمة الإصلاح Repair systems في الخلية الى حصول تطفير وقد تؤدي بالتالي الى نشوء السرطان .

ان المستخاص الكحولي ينفرد بوجود تراكيز عالية من العناصر والمركبات التي تستخاص بصورة اقوي في المذيبات العضوية لاسيما الصبغات والدهون باختلاف أنواعها والفيتامينات الذائبة بالدهون وهي فيتامين E,A التي تتوفر بكميات كبيرة في أوراق نبات المعدنوس ، ان هذه المركبات يكون ذوبانها جزئياً بالماء فقط بينما يكون كلياً بالمذيبات العضوية Abd-Elhady *etal*.,1994.وقد يعمل المستخاص الكحولي لهذا النبات على غلق المواقع الحساسة في ال(DNA)عن طريق الألتصاق بها ومنع حصول تغيرات كروموسومية او من خلال حث أنظمة الأصلاح في الخلية لآصلاح التلف بعد حدوثه او ان التراكيز المختلفة

من المستخلص داخل الخلية تعمل على حث الأنزيمات في بعض العضيات الخلوية التي تزيل السمية وتساعد الخلية على أتمام عملية التضاعف والتقليل من الخطأ الوراثي والطفرة ولهذا يمكن تصنيف المستخلص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس ضمن المثبطات او مشتقاتها وان المركبات الفعالة فيه تعمل على قطع اومنع حصول الطفرة والوقاية من السرطان وهذا ما اشار اليه كلٍ من1985 Kada.,*et al* و 1988, Deflora and Ramall ومن هنا يمكن تصنيف المعدنوس ضمن المركبات التي تعمل داخل الخلية كمضاد للتطفير Antimutagenicity.

4-4:التأثير السمي للمستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس في نمو خلايا الخطوط الخلوية السرطانية

تم اختبار قدرة المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس على تثبيط نمو الخلايا السرطانيه خارج جسم الكائن الحي وقد اجري الاختبار على ثلاثة خطوط خلوية سرطانية وقد عوملت هذه الخطوط الخلوية بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي بدءا من التركيز 0.095مكغم/مل(مكغم/مل) الى التركيز 16000مكغم/مل وقد تم اعتماد التراكيز الست الاعلى من ٨000مكغم/مل الى 16000مكغم/مل لنسبة القتل العالية التي امتازت بها واهملت التراكيز القليلة وذلك لقابليتها الواطئة على القتل حيث تميزت التراكيز(من 0.095 الى 62.5)مكغم/مل بانعدام قابليتها على التثبيط اما التراكيز(من125 الى 1000)مكغم/مل فكانت لها نسب تثبيطية واطئة اقل من50% اما التركيزين(4000,2000)مكغم/مل فكانت نسبة القتل63.1%,66.3% على التوالي لذلك ارتئينا اخذ التراكيز الاعلى من ذلك والتي كانت تمتاز بنسب قتل من 70% فما فوق لفعاليتها في القضاء على نسبه اكبر من الخلايا السرطانيه ولثلاث اوقات هي 72,48,24 ساعه واعتمد اختبار السمية الخلوية Cytotoxicity assay لتقويم تأثير تراكيز المستخلص في نمو الخلايا بدلالة النسبة المئوية لمعدل التثبيط IR%، والذي يستخرج من المعادله الاتية :

$$\%IR = \frac{A-B}{A} \times 100$$

حيث A تعني Control

B تعني Test

1-4-4:الخط الخلوي السرطاني **Hep-2**

عند معاملة الخط الخلوي السرطاني Hep-2 عند التمريرة (231) بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لاوراق النبات عند فترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة وجد تأثير تثبيطي واضح في نمو الخلايا السرطانية وان نسبة التثبيط تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض.

1-1-4-4:المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس

يتبين لنا من الجدول(4-8) ان لهذا المستخلص تأثيرا تثبيطيا كبيراً في نمو الخط الخلوي السرطاني Hep-2 للتراكيز الست المأخوذة وبفرق معنوي كبير عن مجموعة السيطرة وكانت اعلى نسبة للتثبيط عند فترة التعرض 24 ساعه هي 75.778% عند التركيز 16000مكغم/مل اما اعلى نسبة للتثبيط عند فترة التعرض 48 ساعة فكانت 77.093% عند التركيز 16000مكغم/مل ايضا وكذلك بالنسبة لفترة التعرض 72ساعة اذ كانت اعلى نسبة للتثبيط هي 77.136% عند التركيز نفسه وكما هو مبين في الشكل (٤-٤) فأن نسبة التثبيط تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض وان التركيز16000مكغم/مل يتميز بأعلى نسبة قتل عند فترات التعرض الثلاث المختلفة وان اعلى نسبة للقتل هي عند هذا التركيز ولفترة تعرض 72 ساعة وان الشكل(٤-٥) يوضح نسبة التثبيط الكبيرة لخلاياالخط السرطانيHep-2 وقلة عددها عند هذا التركيز وفترة التعرض مقارنة بخلايا الخط غير المعاملة بالمستخلص. ومن الواضح لنا ان نسبة القتل وتثبيط نمو الخلايا للخط الخلوي السرطاني Hep-2 تزداد بزيادة تركيز المستخلص وفترة التعرض رغم ان هذه الفروقات بين نسب التثبيط غير المعنوية عند مستوى المعنوية ($P<0.05$) ولكن هذا لاينفي وجود الزيادة في نسب التثبيط ولكن بمستويات

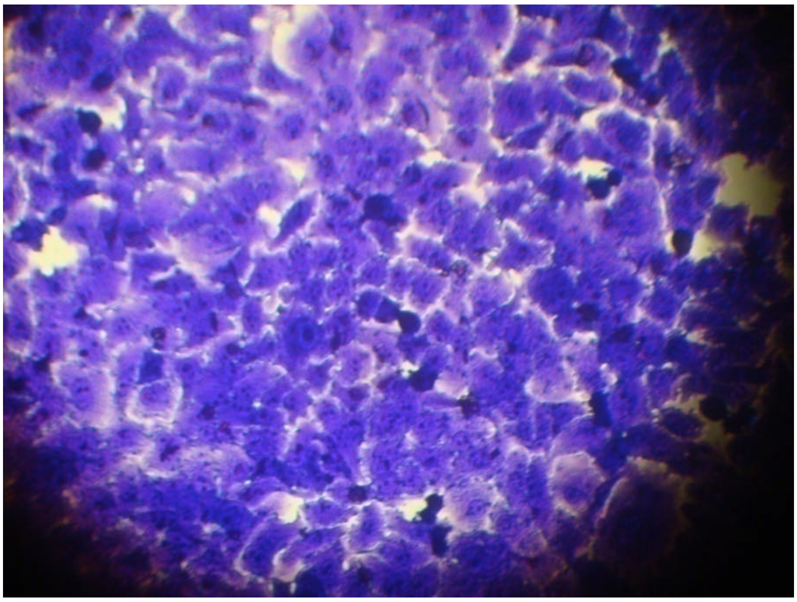
قليلة ومتقاربة بزيادة التركيز وفترة التعرض ومن الجدول(4-14) يتبين لنا ان اعلى قيمة لمعامل الارتباط كانت عند 48ساعة حيث بلغت (+0.919) ثم الـ72ساعة حيث بلغت (+0.914) ثم الـ24ساعة حيث بلغت (+0.913) وهذا يؤكد ان للتراكيز المستخدمة قدرة تثبيطيه عالية جدا للخلايا السرطانيه للخط الخلوي Hep-2 مما يدل على اهمية المستخلص الفعالة وقدرتة العالية على تثبيط نمو خلايا الخط الخلوي السرطانيHep-2.

جدول (**4-8**): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس ولفترات التعرض الثلاث **72,48,24** ساعة للخط الخلوي السرطاني**Hep-2**.

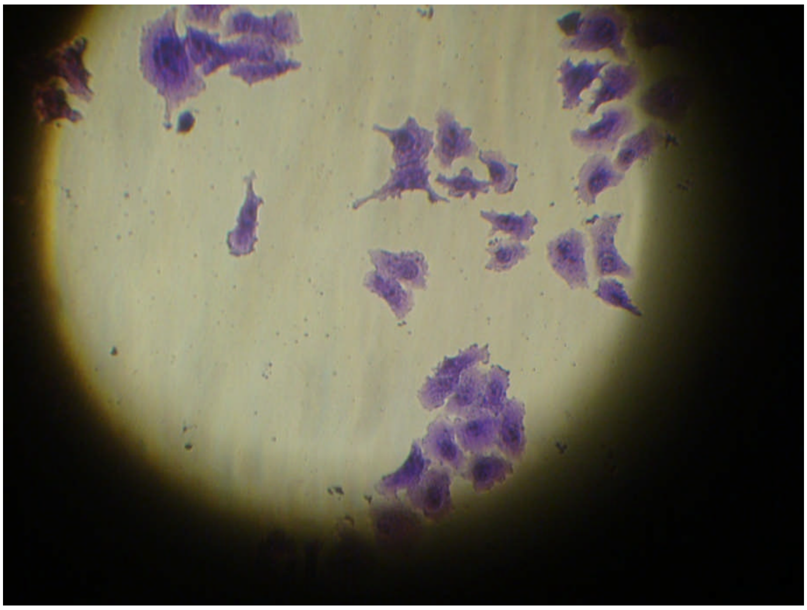
التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	24ساعة	**48**ساعة	**72**ساعة
6000	2.94 ± 70.242	9.20 ± 71.626	10.22 ± 72.594
8000	4.66 ± 73.356	7.05 ± 74.74	14.52 ± 75.23
10000	1.85 ± 74.048	8.51 ± 75.086	6.99 ± 75.779
12000	3.31 ± 75.086	6.58 ± 76.124	9.80 ± 76.125
14000	2.66 ± 75.423	6.20 ± 76.47	5.81 ± 77.125
16000	7.49 ± 75.778	11.39 ± 77.093	13.33 ± 77.136



شكل(4-4): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة للخط الخلوي السرطاني Hep-2 .



(أ):الخط الخلوي السرطاني Hep-2 الذي يمثل السيطرة ،وهو يوضح خلايا الخط الكثيفة والتي تكون بشكل طبقة واحدة (×100).



(ب):الخط الخلوي السرطاني Hep-2 المعامل بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس عند التركيز 16000 مكغم/مل وعند فترة تعرض 72 ساعة ، يوضح الفراغات بين الخلايا وقلة عددها(×100).

شكل(4-5): يوضح المقارنة بين خلايا الخط الخلوي السرطاني Hep-2 غير المعاملة بالمستخلص و الخلاياالمعاملة بالمستخلص عند التركيز 16000 مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعة (×100؛ Crystal violat).

2-4-4:الخط الخلوي السرطاني **HeLa**

عند معاملة الخط الخلوي السرطاني HeLa عند التمريرة (248) بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لاوراق النبات عند فترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة وجد ان له تأثيراً تثبيطياً عالياً للخلايا السرطانية لهذا الخط امتازت بزيادة التثبيط من التراكيز الاقل الى الاعلى ومن فترات التعرض الاقل الى الاكثر كما هو الحال في الخط الخلوي Hep-2 ولكن بنسب تثبيط اعلى .

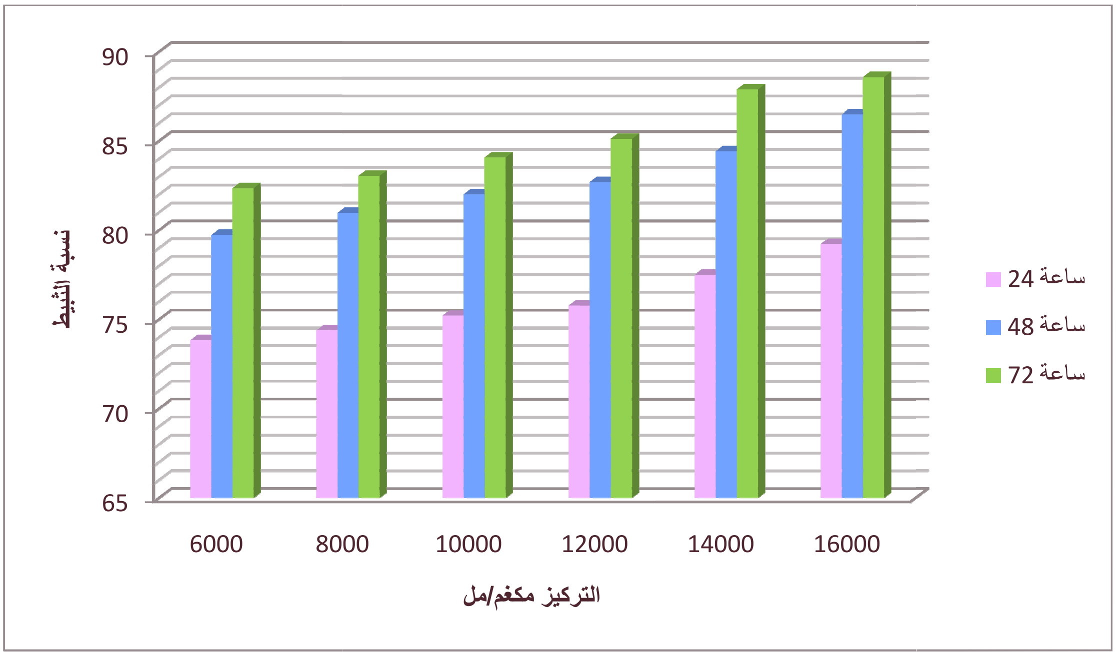
1-2-4-4:المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس

يبين الجدول(4-9)ان للمستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس تأثيراً تثبيطياً كبيراً على نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa ولجميع التراكيز الست المأخوذة وبفروق معنوية كبيرة عن مجموعة السيطرة وان نسب التثبيط تزداد من التركيز الاقل وهو6000مكغم/مل الى التركيز الاعلى16000مكغم/مل وكانت اعلى نسبة للتثبيط خلال فترة التعرض 72,48,24ساعه عند التركيز 16000مكغم/مل هي 79.238% ؛86.505% ؛ 88.581% على التوالي وكما هو ملاحظ في الشكل(4-6) فأن نسبة التثبيط تزداد بزيادة التركيز وفترات التعرض وكانت اعلى نسبة للتثبيط للتراكيز الست المأخوذة عند التركيز16000مكغم/مل ولفترة التعرض72ساعة وان الشكل(٤-٧) يوضح نسبة التثبيط الكبيرة لخلاياالخط السرطانيHeLa وقلة عددها عند هذا التركيزوفترة التعرض مقارنة بخلايا الخط غير المعاملة بالمستخلص. ورغم هذه الفروق في نسب التثبيط بين التراكيز وفترات التعرض فأن هذه الفروق تعد غير معنوية احصائيا عند مستوى المعنوية $(P<0.05)$ ولكن هذا لاينفي وجود هذه الزيادة في التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض ولكن تكون

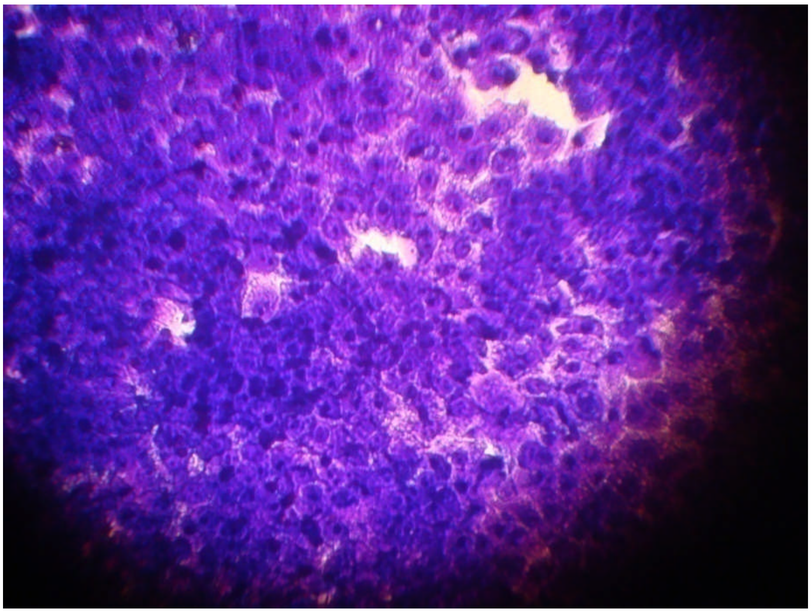
الفروق فيما بينها قليلة .ومن الجدول(4-14) يتبين لنا ان معامل الارتباط بين تراكيز ونسب التثبيط علاقه طردية وعالية جدا كما ملاحظ في الجدول نفسه ولفترات التعرض الثلاث وبلغت اعلى قيمه لمعامل الارتباط عند48 ساعة حيث كانت(+0.982) ثم عند 72ساعه حيث كانت(+0.977) وبعدها عند 24ساعة حين وصلت الى (+0.970) وهي تتقارب مع ما توصلت اليه النتائج عند الخط الخلوي Hep-2 ولكن بمعامل ارتباط اكبر قليلا لكل فترة تعرض هذا يدل على ان التراكيز المأخوذة ذات قدرة تثبيطية عالية جدا لخلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa وهذا يبرهن على اهمية هذا المستخلص النباتي وفعاليتة الكبيرة في تثبيط نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa.

جدول **(4-9)**: تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدونس ولفترات التعرض الثلاث **72,48,24** ساعة للخط الخلوي السرطاني **HeLa**.

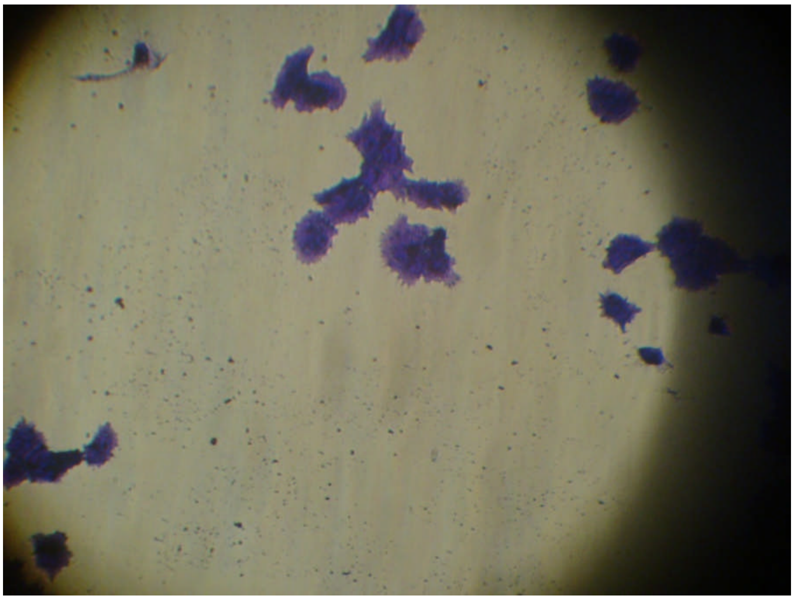
التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	ساعة**24**	ساعة**48**	ساعة**72**
6000	12.94 ± 73.84	3.80 ± 79.93	6.94 ± 82.353
8000	7.04 ± 74.394	4.66 ± 80.968	11.39 ± 83.045
10000	5.81 ± 75.225	2.03 ± 82.006	8.73 ± 84.083
12000	16.82 ± 75.778	5.61 ± 82.698	6.00 ± 85.121
14000	4.55 ± 77.508	7.99 ± 84.429	5.88 ± 87.889
16000	8.84 ± 79.238	3.00 ± 86.505	4.06 ± 88.581



شكل(4-6): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة على الخط الخلوي السرطاني HeLa.



(أ):الخط الخلوي السرطاني HeLa الذي يمثل السيطرة وهو يوضح خلايا الخط الكثيفة والتي تكون بشكل طبقة واحدة (×100).



(ب):الخط الخلوي السرطاني HeLa المعامل بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس عند التركيز 16000مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعة ، يوضح الفراغات بين الخلايا وقلة عددها (×100).

شكل(4-7):يوضح المقارنة بين خلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa غير المعاملة بالمستخلص والخلايا المعاملة بالمستخلص عند التركيز 16000 مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعة (×100 ؛ Crystal violet) .

3-4-4:الخط الخلوي السرطاني **AMN-3**

عند معاملة الخط الخلوي السرطاني AMN-3 عند التمريرة(177) بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس ولفترة تعرض72,48,24ساعه اشارت النتائج الى وجود تثبيط في تكاثر الخلايا عند التراكيز الست المأخوذة ويزداد هذا التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض.

1-3-4-4:المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس

يبين الجدول(4-10) ان لهذا المستخلص تأثير تثبيطي في نمو الخط الخلوي السرطاني AMN-3 وللتراكيز الست المأخوذة وبفروق معنوية كبيرة عن مجموعة السيطرة حيث بلغت اعلى نسبة لتثبيط نمو الخلايا عند التركيز16000مكغم/مل وكانت نسبة التثبيط عند هذا التركيز78.20% لفترة تعرض24ساعة وبلغت نسبة التثبيط 80.96% عند فترة التعرض48 ساعة ووصلت نسبة التثبيط الى 82.69% عند فترة التعرض 72ساعة، وكما هو ملاحظ في الشكل(4-8) فأن نسبة التثبيط تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض حيث بلغت اعلى نسبة للتثبيط عند التركيز16000مكغم/مل وفترة تعرض72ساعة وان الشكل(٤-٩) يوضح نسبة التثبيط الكبيرة لخلاياالخط السرطانيAMN-3 وقلة عددها عند هذا التركيز مقارنة وفترة التعرض بخلايا الخط غير المعاملة بالمستخلص.

ورغم الزيادة الحاصلة في نسب التثبيط بين التراكيز المعتمدة فأنها تعد غير معنوية احصائياً عند مستوى المعنوية (P‹0.05) ولكن هذا لاينفي وجود هذه الزيادة في نسب التثبيط ولكنها بفروق قليلة غير معنوية.ومن الجدول (4-14) يتبين ان معامل الارتباط ذو قيمة عالية

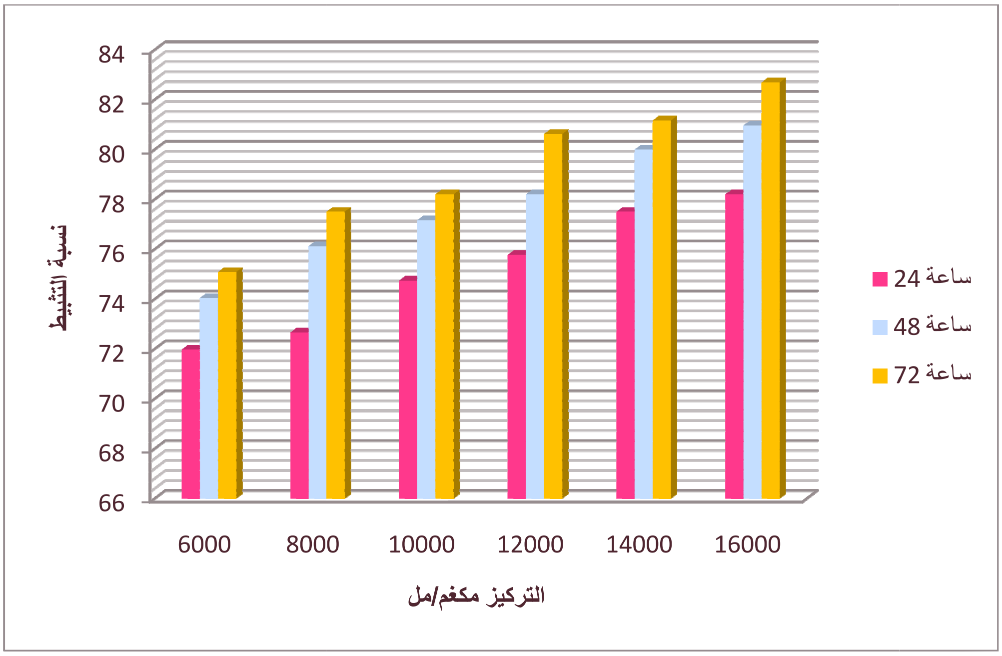
وهذا يعني وجود علاقة طردية قوية بين التراكيز ونسب التثبيط ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة وان اعلى قيمة لمعامل الارتباط كانت عند فترة تعرض 48 ساعة اذ وصلت الى 0.971+ ثم تلتها عند فترة تعرض 72 ساعة حيث بلغت 0.943+ ثم عند فترة تعرض 24 ساعة حيث كانت 0.853+.

ان قيم معامل الارتباط للخط الخلوي AMN-3 ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة قريبة لقيمته عند الخطين الخلويين Hep-2,HeLa مع وجود بعض الاختلافات بين الخطوط الثلاث ولفترات التعرض الثلاث المختلفة كما في الشكل(4-13).ان قيم معامل الارتباط تعطي الدليل القاطع على ان التراكيز الست المأخوذة للمستخلص النباتي ذات قيمة تثبيطية عالية لخلايا الخط الخلوي AMN-3.ومن الجدول (4-11) يتبين لنا ان للتراكيز الست المأخوذة والمعاملة بها الخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 ذات نسب تثبيطية عالية عند فترة تعرض24 ساعة مع وجود فروقات بين الخط الخلوي نفسه وبين الخطوط الخلوية الثلاث ولكن هذه الفروقات لاتعد فروقاً معنوية احصائياً عند مستوى المعنوية (P‹0.05) كما ان الشكل(4-10) يؤكد ذلك ويبين ان الخط الخلويHeLa يمتلك اعلى نسبة للتثبيط وبفارق ضئيل عن الخطينHep-2, AMN-3 وقد اقتربت نسبة التثبيط كثيراًبين الخطينHeLa و AMN-3 عند التركيزين (12000, 14000) مكغم/مل. وكذلك فأن الجدول(4-12) يتبين لنا ان للتراكيز الست المأخوذة والمعاملة بها الخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 ذات نسب تثبيطية عالية عند فترة تعرض 48 ساعة مع وجود فروقات بين الخط الخلوي نفسه وبين الخطوط الخلوية الثلاث ولكن هذه الفروقات لاتعد فروقاً معنوية احصائياً عند مستوى المعنوية (P‹0.05) وان الشكل(4-11) يدعم هذه النتيجة وكذلك الجدول (4-13)

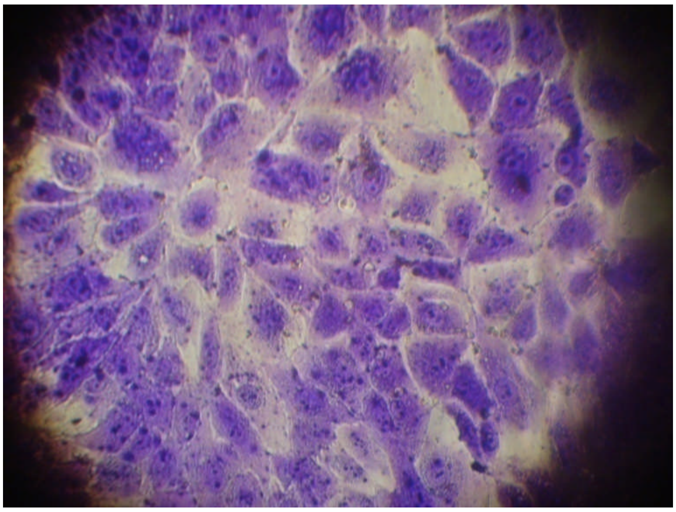
يتبين لنا ان للتراكيز الست المأخوذة والمعاملة بها الخطوط السرطانية الثلاثHeLa,Hep-2, AMN-3 ذات نسب تثبيطية عالية عند فترة تعرض 72 ساعة مع وجود فروقات بين الخط الخلوي نفسه وبين الخطوط الخلوية الثلاث ولكن هذه الفروقات لاتعد فروقاً معنوية احصائياً عند مستوى المعنوية (P‹0.05) وان الشكل (4-12) يؤكد هذه النتيجة. ومن كل ما تقدم يتبين لنا القدرة التثبيطية العالية للمستخلص الكحولي لنبات المعدنوس وقابليته الكبيرة على تثبيط الخطوط السرطانية الثلاث المأخوذة وبنسب تثبيط عالية خاصة عند التراكيز الست المأخوذة للمستخلص النباتي.

جدول(4-10):يبين تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس ولفترات التعرض الثلاث **72,48,24** للخط الخلوي السرطاني **AMN-3.**

التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	ساعة**24**	ساعة**48**	ساعة**72**
6000	9.53 ± 71.97	6.33 ± 74.04	8.99 ± 75.08
8000	4.81 ± 72.66	4.51 ± 76.12	4.83 ± 77.50
10000	6.53 ± 74.74	3.34 ± 77.16	6.51 ± 78.20
12000	7.02 ± 75.77	7.10 ± 78.20	9.43 ± 80.62
14000	10.81 ± 77.50	4.26 ± 79.99	7.66 ± 81.16
16000	9.43 ± 78.20	5.54 ± 80.96	4.53 ± 82.69



شكل(4-8): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة على الخط الخلوي السرطاني AMN-3 .



(أ):الخط الخاوي السرطاني AMN-3 الذي يمثل السيطرة وهو يوضح خلايا الخط الكثيفة والتي تكون بشكل طبقة واحدة(100×).

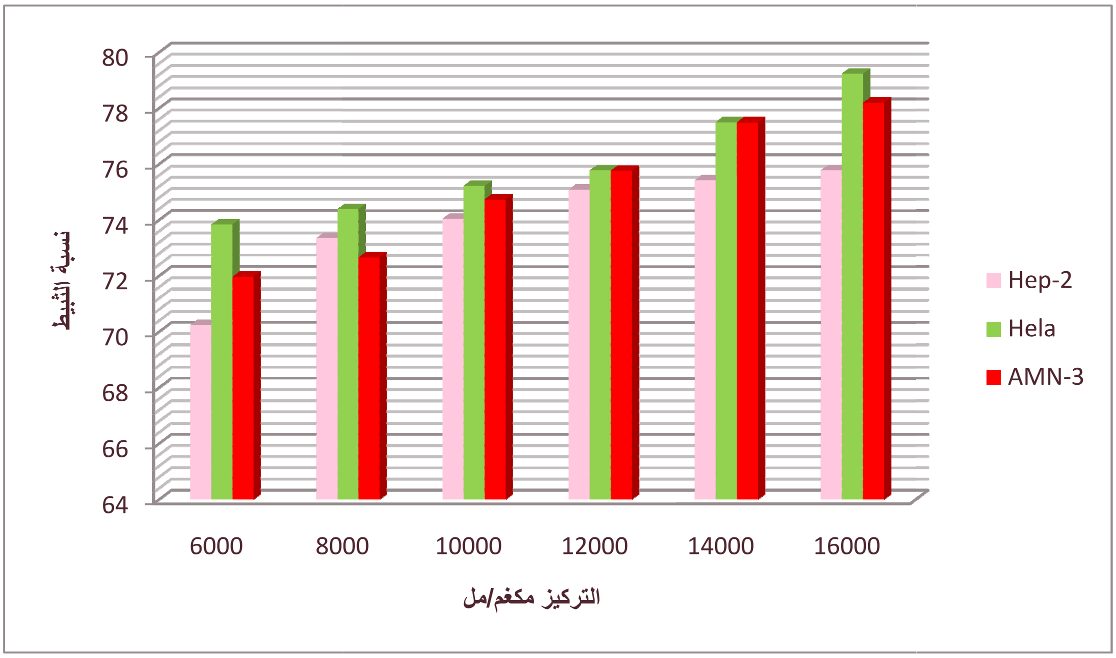


(ب):الخط الخاوي السرطاني AMN-3 المعامل بالمستخص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس عند التركيز 16000مكغم/مل وعند فترة تعرض 72 ساعة ، يبين الفراغات بين الخلايا وقلة عددها (100×).

شكل(4-9): يوضح المقارنة بين خلايا الخط الخاوي السرطاني AMN-3 غير المعاملة بالمستخاص والخلايا المعاملة بالمستخاص عند التركيز 16000 مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعة (100× ؛ Crystal violat).

جدول (**11-4**): مقارنة بين تراكيز مختلفة من المستخاص ولفترة تعرض**24** ساعةعلى الخطوط الخلوية الثلاث **AMN-3,HeLa,Hep-2**.

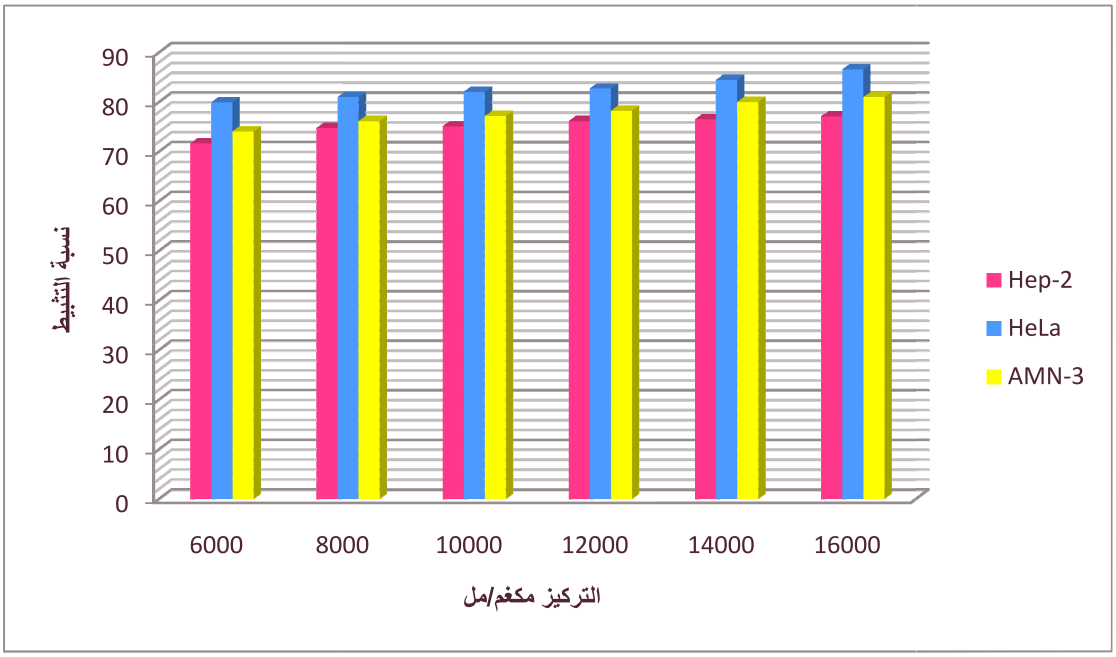
التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	Hep-2	**HeLa**	**AMN-3**
6000	2.94 ± 70.242	12.94 ± 73.84	9.53 ± 71.97
8000	4.66 ± 73.356	7.04 ± 74.394	4.81 ± 72.66
10000	1.85 ± 74.048	5.81 ± 75.225	6.53 ± 74.74
12000	3.31 ± 75.086	16.82 ± 75.778	7.02 ± 75.77
14000	2.66 ± 75.423	4.55 ± 77.508	10.81 ± 77.50
16000	7.49 ± 75.778	8.84 ± 79.238	9.43 ± 78.20



شكل(10-4):يبين المقارنة بين الخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخاص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس ولفترة تعرض24 ساعة.

جدول **(4-12)**: مقارنة بين تراكيز مختلفة من المستخلص ولفترة تعرض **48**ساعة على الخطوط السرطانية الثلاث **AMN-3,HeLa,Hep-2**.

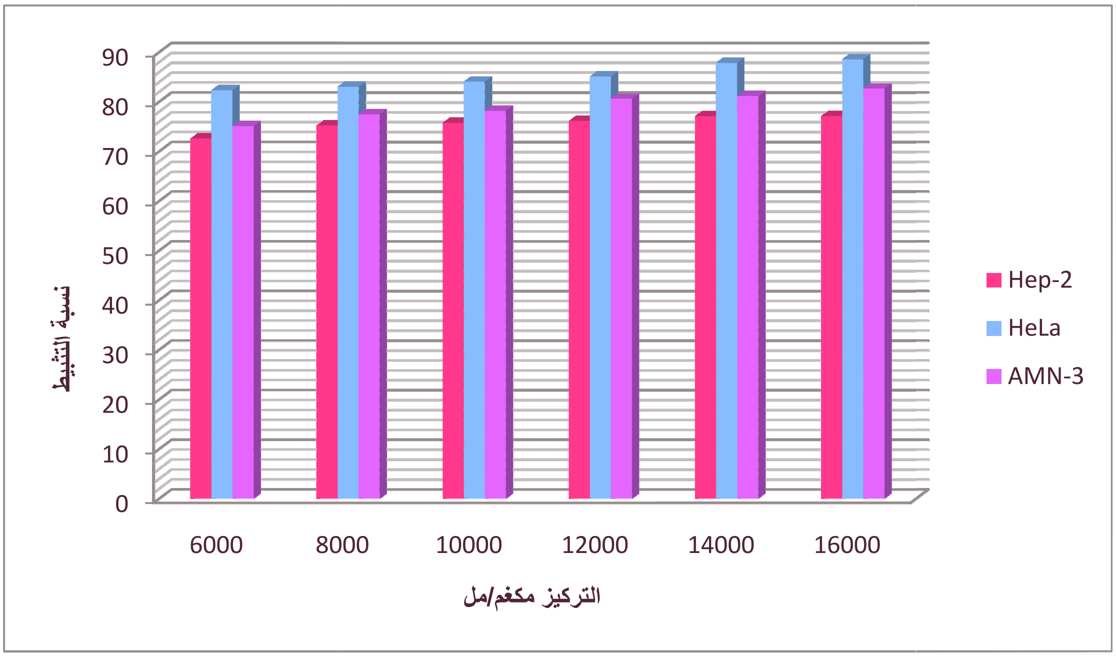
التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	Hep-2	**HeLa**	**AMN-3**
6000	9.20 ± 71.626	3.80 ± 79.93	6.33 ± 74.04
8000	7.05 ± 74.74	4.66 ± 80.968	4.51 ± 76.12
10000	8.51 ± 75.086	2.03 ± 82.006	3.34 ± 77.16
12000	6.58 ± 76.124	5.61 ± 82.698	7.10 ± 78.20
14000	6.20 ± 76.47	7.99 ± 84.429	4.26 ± 79.99
16000	11.39 ± 77.093	3.00 ± 86.505	5.54 ± 80.96



شكل(4-11): المقارنة بين الخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 بتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص ولفترة تعرض 48 ساعة.

جدول **(4-13)**: مقارنة بين تراكيز مختلفة من المستخلص ولفترة تعرض **72** ساعة على الخطوط السرطانية الثلاث **AMN-3,HeLa,Hep-2.**

التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	Hep-2	**HeLa**	**AMN-3**
6000	10.22 ± 72.594	6.94 ± 82.353	8.99 ± 75.08
8000	14.52 ± 75.23	11.39 ± 83.045	4.83 ± 77.50
10000	6.99 ± 75.779	8.73 ± 84.083	6.51 ± 78.20
12000	9.80 ± 76.125	6.00 ± 85.121	9.43 ± 80.62
14000	5.81 ± 77.125	5.88 ± 87.889	7.66 ± 81.16
16000	13.33 ± 77.136	4.06 ± 88.581	4.53 ± 82.69



شكل(4-12): مقارنة بين الخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 بتراكيز مختلفة من المستخلص ولفترة تعرض 72 ساعة.

جدول(4-14): معامل الارتباط الذي يوضح العلاقة بين التراكيز المأخوذة ونسب التثبيط لكل من الخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 وعند فترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة.

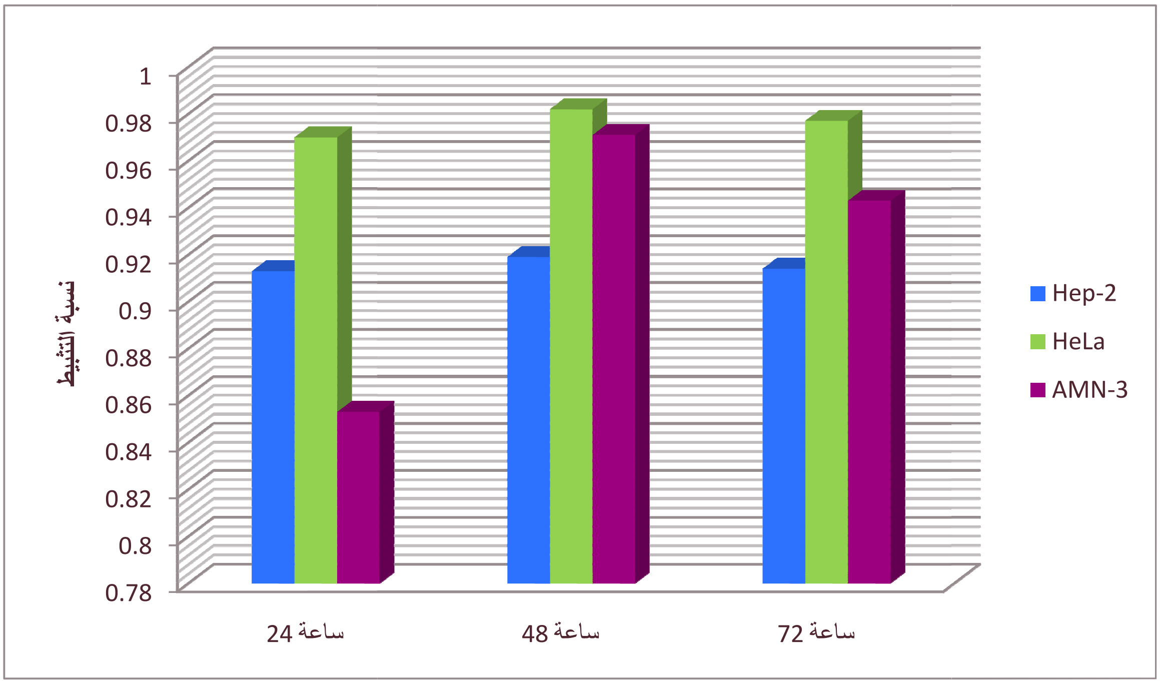
	نسبة التثبيط **Hep-2**		
التركيز مكغم/مل	**24** ساعة	**48** ساعة	**72** ساعة
	+0.913	+0.919	+0.914
	نسبة التثبيط **Hela**		
التركيز مكغم/مل	**24** ساعة	**48** ساعة	**72** ساعة
	+0.970	+0.982	+0.977
	نسبة التثبيط **AMN-3**		
التركيز مكغم/مل	**24** ساعة	**48** ساعة	**72** ساعة
	+0.853	+0.971	+0.943

+ علاقة طردية

0.3-0.1 علاقة ضعيفة

0.6-0.4 علاقة متوسطة

0.9-0.7 علاقة قوية



شكل(4-13): معامل الارتباط الذي يبين العلاقة بين التراكيز المأخوذة ونسب التثبيط لكل من الخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة.

ان النتائج التي توصلنا اليها في هذه الدراسة دعمت بما توصل اليه العديد من الباحثين حول ما تمتلكه المستخلصات النباتية من فعالية مضادة للخلايا السرطانية وان هذه الفعالية تعتمد بشكل اساس على التركيز المستعمل وفترة التعرض كما تعتمد على نوع المستخلص والمركبات الفعالة فيه ومدى حساسية الخلايا السرطانية لكل ذلك.وان النتائج التي تحصلنا عليها والتي اثبتت تأثير المستخلص الكحولي لنبات المعدنوس وقدرته على التثبيط العالي لنمو الخلايا السرطانية للخطوط السرطانية الثلاث AMN-3,HeLa,Hep-2 والتي امتازت بزيادة نسبة التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض حتى وان كانت بين التراكيز والفترات والخطوط وهذا ما اشار له العديد من الباحثون في دراساتهم ومن هذه الدراسات ما قام به

(الحلي،2004) على عشب السعد*Cyperus rotundusl* والذي اختبر قابليتة على تثبيط الخطوط الخلوية السرطانية AMN-3,RD,Hep-2 اذ استخدم ثلاث انواع من المستخلصات للنبات هي الهكساني والمائي والايثانولي وبثمان تراكيز مختلفة ولثلاث فترات تعرض72,48,24 ساعة وبشكل عام كانت النتائج تمتاز بزيادة نسبة التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض مع وجود اختلافات في نسب التعرض بأختلاف التراكيز والمستخلصات المستخدمة كذلك هذا ما لاحظناه في دراسة (سلمان،2008) اذ قامت الباحثة بأستخدام ثلاث انواع من المستخلصات النباتيه لنبات الكلغان *Silybum marianuml* وكانت المستخلصات (المائي الخام، الايثانولي الخام، الزيتي الخام) واستخدمت تراكيز مختلفة للمستخلص ودرست تأثيرها في الخطوط السرطانيه RD,AMN-3,Hep-2 والخط الطبيعي REF ولاحظت الباحثة ان نسبة التثبيط للخلايا السرطانية للخطوط الخلوية الثلاث RD,AMN-3,Hep-2 تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض اما بالنسبة للخط الخلوي الطبيعي REF فأن النتائج لم تعطي نسب قتل معنوية مع مجموعة السيطرة والفروق قليلة وغير مهمة احصائيا. وقد وجدت (السعدي،2008) في دراستها على قشور نبات الرمان ان هناك نسب تثبيط لنمو الخلايا السرطانيه للخطين الخلويين السرطانيين Hep-2,AMN-3 وان هذه النسب تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض حتى بلغت اعلى نسبة لتثبيط خلايا الخطين عند اعلى تركيز وهو700مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعm وكانت النسبة (59.27%) للخط AMN-3 و(56.64%) للخط Hep-2 بينما في الخط الخلوي الطبيعي REF كانت نسب التثبيط عند التركيز 700مكغم/مل وبفترة تعرض 72ساعة هي(23%) والتي تعد قليلة بالنسبة لتثبيط الخلايا . كما لاحظت (الموسوي، 2006) امتلاك مستخلصات نبات الصنصاف فعالية تثبيط لسرطان الحنجرة البشري Hep-2 والـ AMN-3 ودراسة (السعدي،2008) عن تأثير اوراق

المديد على الخطين الخلويين الـ Hep-2 والـ AMN-3 والخط الخلوي الطبيعي REF ودراسة (الجريصي،2007) في دراسة تأثير المستخلصات النباتية لنبات التمر الزهدي لنمو سرطان Hep-2 والـAMN-3.وقد تعزى قدرة النباتات المختلفة على تثبيط مختاف الخطوط السرطانية الى وجود المركبات الكيميائية الزيتية الموجودة في تلك النباتات.حيث ان النباتات والاعشاب الطبية تمتلك العديد من المركبات ذات الفعاليات المختلفة ومن هذه الفعاليات هي الفعالية السمية المثبطة للخلايا السرطانية داخل جسم الكائن الحي او خارجه وان لهذه المركبات عدة اليات من شأنها ان تؤدي الى تثبيط قدرة الخلية السرطانية والحد من نموها وانتشارها وقتلها(Mori *etal.*,2002).

ان نبات المعدنوس احد تلك النباتات الطبيعية التي تمتلك العديد من هذه المركبات الفعالة والمؤثرة في القتل وتثبيط الخلايا السرطانية ومن هذه المركبات القلويدات اذ ان لهذه المركبات اهمية في تثبيط نمو الخلايا السرطانية وهذا ما نلاحظة في القلويد Isostry chnopentamino الموجود في الشجرة الافريقية *Strychnos usambar ensis* اذ انه يحدث عملية الموت المبرمج للخطوط الخلوية لسرطان القولون Hct-116 (Frederich *etal.*,2003).كما ان لقلويد Homohar ringtonine المعزول من جذور نبات *Cephalotauns herringtona* له دور في تثبيط الخلايا السرطانية من خلال تثبيط صنع البروتين والـ(DNA)(Alexandrova *etal.*,2000).كما ان نبات المعدنوس يحتوي على الفينولات المتعددة Polyphenols والتي تحتوي على مركبات الفلافونات Flavonoids التي تعمل بوصفها مركبات ضد عملية الاكسدة Antioxidant في تأثيرها على الخلايا السرطانيه(Lopez-Lazaro *etal.*,2001) وهذا ما اشار اليه الحلي،(2004) حيث نصت

على ان المركبات الفينولية المتعددة ومن ضمنها الفلافونويد الموجود في عشب السعد لها دور كبير بأعتبارهاعوامل مضادة للاكسدة في فعاليتها التثبيطية للخطوط السرطانية (3 (RD,AMN-Hep-2, معتمدا في ذلك على التراكيز ونوع المستخلص، كما ان لهذه المركبات القدرة على احداث التأثير السمي على سرطان البروستات Vascular Endothelial Growth factor(VEGF) والذي يكون مسؤول عن تكوين الاوعيه الدمويه الجديده(Angiogensis) مما يعطي هذه المركبات دور اساسي في تثبيط وقتل الخلايا السرطانيه، كما بين Elangovar واخرون ،(1994) ان لمركبات الفلافونات تأثيرا تثبيطيا على نمو خلايا الخط الخاوي السرطاني (Hep-2) وكذلك الخط الخاوي السرطاني(S-Sarcomy-L 80(L80 وذلك عن طريق ايقاف عملية تضاعف الـ (DNA) عند مرحلة S-phase خلال دورة حياة الخليه ومن الجدير بالذكر ان اهمية هذه المركبات في عملة تثبيط الخلايا السرطانيه للخطوط الخاويه السرطانيه المختلفه جاءت من قدرة هذه المركبات في التأثير على الاليه السرطانية من خلال تثبيط فعالية الجين (Caceres-Cortes *etal* .,2001) Bcl-2 ونتيجة للخلل الحاصل في هذا الجين تدخل الخليه السرطانية مرحلة الموت المبرمج Apoptosis كما هو الحال في العديد من الخطوط الخلوية السرطانية لسرطان الدم البشري(Pellechia and Human Leukemic cell Lines Reed.,2004) ولكفاءة فعالية هذه المركبات فهناك العديد من الخطوط الخاوية السرطانية التي لها القدرة على تثبيطها مثل سرطان الثدي (Bc1) وسرطان القولون البشري(colo320)وسرطان الرحم البشري(CASKI) وسرطان البروستات البشري (Lopez.Lazaro, *etal* 2001; Forkmann and Martens,2001).

كما ان للمركبات الفينولية المتعددة وخاصة تلك المضادة لعملية الاكسدة القدرة على تثبيط نمو الخلايا السرطانية والحد من انتشارها وذلك لامتلاكها القابلية في كسح Scavenger الجذور الحرة المتولده عند تحول الخلايا من الطبيعية الى خلايا سرطانية (Forkmann and Martens.,2001).وان التربينات الموجودة في اوراق نبات المعدنوس والتي تمثل احد مركباته لها دور مؤثر والقدرة على تثبيط نمو خلايا سرطان المعدة من خلال قدرتها على خفض تصنيع الـ(DNA) وحث الخلايا على الموت المبرمج للخط الخاوي السرطاني Leukemia cell HL-601،وان لهذه المركبات اهمية بالغة في تثبيط والحد من انتشار خلايا الخط الخلوي السرطاني Human Myelogenous Leukemia وذلك من خلال ايقاف الدوره الخلوية عند طور G1 (Sadeghi and Yazdanparst.,2003).

وقد لوحظ ان التأنينات Tanins الموجودة في اوراق النبات لها التأثير الواضح على الخلايا السرطانيه للخط الخلوي السرطاني (HL-60) وذلك من خلال تجزئة شريط الـ(DNA) وحث الخلايا لنمو الموت المبرمج (Sakagami.,1995).وتحتوي اوراق نبات المعدنوس ايضا على الصابونيات التي لها دور فعال في تثبيط الخلايا السرطانيه وذلك من خلال ميكانيكيات متعددة وهذا ما لوحظ في نبات *Acacia victoria* حيث ان لها دور تثبيطي انتقائي في نمو الخطوط الخاويه السرطانيه بواسطة توقف دورة الخليه في سرطان الثدي عند الانسان وكذلك تحدث الموت المبرمج للخلية في الخط الخلوي لسرطان الدم (Hanausek *etal*.,2001) وهذا ما لوحظ ايضا في العشبه الصينيه *Panax gensing* حيث انها استخدمت لعلاج السرطان بسبب قدرتها على تثبيط السرطان في الحيوانات المختبريه (Cogo and Kevinlai.,2003).

يحتوي نبات المعدنوس ايضا على فيتامين -C- الذي يمتاز بأمتلاكة قدرة تثبيطية عالية للخلايا السرطانية من خلال فعاليتة المضادة للاكسدة Anti-oxidation اذ انه يكون ساماً للخلايا السرطانية من خلال عملية ازالة الجذور الحرة المتولدة بتكون الخلايا السرطانية (Jacob,1995).من هذا كله يتوضح لنا اهمية نبات المعدنوس كنبات طبي فعال لقابليتة التثبيطية في تثبيط نمو الخلايا السرطانية اضافة الى اهميتة في معالجة امراض مختلفة اخرى.

الاستنتاجات والتوصيات Conclusion and Recommendations

1-5:الاستنتاجات CONCLUSIONS

1-الجرعة (500 ملغم /كغم) للمستخلص الكحولي لبذور وأوراق نبات المعدنوس هي الجرعة الأفضل في تثبيط معدل دالة الانقسام لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية ، وذات تأثير فعال بعد 28,21 يوماً من التجريع الفموي .

2-أدى المستخلص الكحولي الخام لبذور وأوراق نبات المعدنوس الى انخفاض معدل ظهور النواة الصغيرة لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية لجميع الجرع ،لكنها لم تؤدي الى إحداث تغيرات ذات دلالة معنوية .

3-ان المستخلصات الكحولية الخام لبذور وأوراق نبات المعدنوس أدت إلى انخفاض في معدل ظهور التغيرات الكروموسومية ممثلة بالكسر (الكروماتيدي والكروموسومي) لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية ولجميع الجرع ،لكنها لم تصل الى مستوى الاختلاف المعنوي .

4-يمتلك المستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات المعدنوس تأثيراً تثبيطياً في نمو خلايا الخطوط الخلوية السرطانية (AMN-3, HeLa , Hep-2) للفترات الثلاث المختلفة72,28,24 ساعة .

5-أن المستخلص الكحولي الخام لأوراق نبات المعدنوس الخلوية قد أعطى نسب قتل جيدة ومؤثرة في الخطوط السرطانية وان نسبة القتل تزداد بزيادة التركيز للمستخلص ومدة التعرض .

2-5:التوصيات والمقترحات RECOMMENDATIONS & SUGGESTIONS

1- إمكانية اعتبار نبات المعدنوس من النباتات الطبية ذات الفعالية بتأثيرها في معدل انقسام الخلايا الجسمية .

2- عزل وتنقية المواد الفعالة الموجودة في المستخلصات الكحولية ودراسة تأثيراتها وفعاليتها في تثبيط نمو الخلايا الطبيعية والسرطانية .

3- إجراء تنقية كمية ونوعية للمركبات الفعالة ودراسة تأثيراتها الوراثية والخلوية .

4-إجراء دراسة مناعية لمعرفة تأثير تلك المستخلصات ومركباتها في الجهاز المناعي للفئران المختبرية والإنسان .

5- إجراء دراسة نسيجية تركيبية ووظيفية لمعرفة تأثير تلك المستخلصات على بعض الأعضاء الجسمية .

6- الاهتمام بالتقصي والبحث عن مكونات النبات الطبية المختلفة وإجراء دراسة مكملة وشاملة لفحص القابلية المضادة للطفرة والتسرطن للنبات وفي أنواع مختلفة من الأوساط (المائية ، الميثانول ، الهكسان وغيرها) من المذيبات .

7- دراسة تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس في خطوط سرطانية أخرى

8- دراسة تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات المعدنوس في نمو او تثبيط الأورام داخل جسم الفئران المختبرية .

أستعراض المراجع Literature review

1-2: النباتات الطبية Medicinal Plants

أستعملت النباتات الطبية ومستخلصاتها منذ القدم وكانت اقدم الشعوب يستعملونها في التداوي لمختلف الامراض التي كانت تلم بهم ومنذ ذلك الوقت بدأت تتجلى اهمية هذه النباتات وخصائصها العلاجية فضلاً عن أهميتها الغذائية ومن الجدير بالذكر أن فائدة هذه االنباتات لاتقتصر على هذا فحسب بل تتعداه الى أهميتها في وقاية الجسم من الأمراض كون تلك النباتات تمتلك مركبات كيميائية عديدة تختلف بانواعها وتراكيزها وتأثيرها باختلاف النبات المستعمل وتعطي النبات الاهمية والقدرة على مقاومة الامراض لذلك فهي تعد مصدراً اساسياً في الصناعات الدوائية وأنتاج مختلف أنواع العقاقير لمعالجة العديد من الامراض المختلفة (De-Smet,1997).

علاوة على ما تقدم فان الميزة الاساسية للنباتات الطبية تتجلى بقدرتها على كبح فعالية العديد من انواع البكتريا والفايروسات ومقاومتها وتطهير الجسم منها. ولكي يتم الحصول على افضل نتيجة ممكنة من استعمال النباتات الطبية يجب اخذها بكميات ونسب معينة مسموح بها و معرفة الفترات الملائمة لأخذها واستعمالها(رويحة وامين،1983).

وهناك العديد من النباتات الطبية المعروفة والمتداولة على نطاق واسع ولامراض مختلفة مثل نبات سم الفراخ (العتابي،2001) والهيل (اليعقوبي،2004) ونبات السعد(الحلي،2004) الحبة السوداء (الاوسي،2006) والتمرالزهدي (الجريصي،2007)

والكرفس (التميمي،2007) والمديد (السعدي،2008) والقيصوم (العبيدي،2008) والبربين (الربيعي،2008) وحشيشة الليمون والنعناع والدارسين(عبد الحسين،2008) كذلك نبات عرق السوس والحلبة والبصل وغيرها وان نبات المعدنوس من ابرز هذه النباتات وتأكيداً لاهمية هذه النباتات فقد اثبت ان قلة تناول الكاروتينات (الصبغ الجذري) الموجود في الخضروات الخضراء والصفراء يساهم في زيادة خطر الاصابة بمرض سرطان الرئة(العمري، 2008).

دور النباتات في تثبيط الطفرة والوقاية من السرطان Role of the plants in the inhibition of mutation and preventation of cancer

منذ وقت بعيد والأنسان يتناول العديد من النباتات الطبية مثل الفواكه والخضر وكوجبات غذائية، تؤدي النباتات باختلاف أنواعها دور مهما في تقليل الطفرات والوقاية من السرطان وقد قام الكثير من الباحثين ولفترة طويلة بدراسة تأثير النباتات في العديد من الكائنات الحية سواء كانت مجهرية أو كائنات راقية بشكل طبيعي أو تحويل النباتات الى مستخلصات بأستعمال مذيبات كيميائية تم أختبارها(Deflora and Ramel ,1988) .

ومثال ذلك الشاي الأخضر المأخوذ من نبات كاميلا *Gamela Sinensis* له القابلية على تثبيط الطفرات المعلمة بوساطة He^3 مع DNA البشري ويثبط المطفر المحفز للورم الخبيث الجلدي في الفأر وتلعب مادته الأساسية دوراً هاماً كعامل مضاد لتقدير الورم وكعامل مضاد لبدء الورم في الجلد (Katiyar *et al* .,1992). تمتلك مكونات نبات الشاي دوراً تثبيطياً لعدد من الطفرات والسرطانات لأحتوائه على العديد الأحماض الامينية(Stich , 1992) ؛ يستعمل الشاي الأخضر كشراب شائع في آسيا والصين ويستعمل كدواء خافض للحرارة

ومدرر للبول ويمتلك خصائص مضادة للطفرة والأكسدة الذاتية لاحتوائه العالي على متعدد الفينولات polyphenol التي تعمل على تثبيط السرطان (Wang *et al* ., 1989).

قورنت المستخلصات المائية للشاي الأخضر والأسود والشاي الخالي من الكافائين كمضادات للطفرة وأعطت هذه الستخلصات فعالية عالية ضد الطفرات وكان أكثرها فعالية الشاي الأخضر ثم الشاي الأسود الخالي من الكافائين وبفرق غيرمعنوية (Abbas., 1996)

تمتلك النبتة الصينية Ginseng دور تثبيطي في المسرطنات التي حقنت لمواليد الفئران منذ تجريع مستخلص هذه النبتة لمواليد الفئران أنخفض معدل أصابتها بسرطان الرئة الى 29% وأنخفض معدل أصابتها بسرطان الكبد الى 95% مقارنة بالسيطرة الموجبة (Yun *et al* ., 1983) ، وتوصل Lee وجماعته (1998) الى أن فيتامين C , E والبيتاكاروتين في نبتة Ginseng لهم دور وقائي من السرطانات كمواد مضادة للأكسدة وذلك عند أعطائها للمدخنين (أكثر من عشرين سيكارة في اليوم) كذلك فأن لنبات البربين تأثير تثبيطي عالي على نمو حجم الاورام السرطانية المغروسة في الفئران البيض(الربيعي،2008)،كماان لعشبة السعد تأثير تثبيطي للعديد من الخطوط السرطانية لما لمستخلصاتها من قابلية كبيرة في حالة الأكسدة والأختزال للخلايا السرطانية سلبياً اوايجابياً وبالتالي زيادة القدرة على التخاص من الجذور الحرة المتولدة نتيجة التسرطن من خلال زيادة او نقصان بعض الانزيمات المهمة في عملية الأكسدة وضد الاكسدة مثل Catalase وغيرها(الحلي،2004) كذلك فقد أظهرت دراسة تأثير مستخلص نبات الدفلة في الخلايا الطبيعية وخطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج ان هذا النبات ممكن ان يكون علاجاً واعداً للسرطان وثبت ذلك من سلامة استخدامه في علاج سرطان الغدة اللبنية للفأروالنتائج الجيدة التي تحققت في هذا المجال(الشيباني،2006).

2-2 :نبات المعدنوس ***Petroselinum crispum*** :

نبات المعدنوس كما يدعى في اغلب البلدان العربية يسمى ايضاً بالمقدونس نسبة الى مقدونيا وهي الموطن الاصلي للنبات كذلك يسمى احيانا بالبقدونس في بعض البلدان العربية وفي بلدان اخرى بالكرفس الرومي وكذلك يدعى بالطراسلون باللغة اليونانية ويدعى ماتت باللغة الفرعونية ويطلق عليه Parsley باللغة الانكليزية واول من اطلق عليه اسمه العلمي *Petroselinum* هو الطبيب المشهور ديقوريدس(WWW.abib.Com 2008).

1-2-2:تصنيف النبات **Classification of plant** :

يصنف نبات المعدنوس كالاتي:

Kingdom Plantae

Subkingdom Tracheobionta

Superdivision Spermatophyta

Division Magnoliopsida

Class Dicots

Order Umbellales

Family Umbelliferae

Genus *Petroselinum*

Species *crispum* (Mill.)Airy-shaw

(AL-Rawi *et al*.,1964)

2-2-2 :تركيب المعدنوس : **Structure of *Petroselinum crispum***

ان جذور المعدنوس عطرية قليلا مع طعم حلو خفيف وهي تحتوي على النشأوهلام وسكر وزيوت طيارة ورماد ومواد اخرى ،ورق المعدنوس يحتوي على زيوت طيارة اكثر من الجذور والزيوت الطيارة الموجودة في الجذور تحتوي على املاح معدنية،حديد ،كالسيوم ،فسفور فيتامينA,C (رويحة وأمين،1983).

3-2-2:الوصف العام للنبات : **General Description of Plant**

يعد نبات المعدنوس من النباتات العشبية ثنائية الحول،ويتراوح ارتفاعه ما بين٣٠-٦٠سم له سيقان عديدة تنمو جميعها من جذر واحد وتكون قائمة ومدورة ومتفرعة وتكون الاوراق والازهار مركبة وتتميز الثمار بلونها الابيض كذلك تكون الثمار مركبة خيمية و يتميز نبات المعدنوس برائحته العطرية النفاذة واوراقه الخضراء الزاهية وهو من العائلة الخيمية ومن أصنافه:

أ-البلدي الاملس

ب-الافرنجي المجعد

كما يمكن الحصول على زيت المعدنوس من البذور ويمكن استعمال جميع اجزائه بما فيها الجذور،وهناك عدة انواع زراعية من المعدنوس تبلغ ٧٣صنفا كانت تزرع منذ قديم الزمان (رويحة وأمين،1983).



(أ)



(ب)

الشكل(2-1):نبات المعدنوس *Petroselinum crispum*

(أ):الاوراق والجزء الخضري لنبات المعدنوس.

(ب):بذور نبات المعدنوس.

4-2-2:مناطق التوزيع : **Regional Distribution**

يزرع المعدنوس في اغلب مناطق العالم وان الموطن الاصلي للنبات هومقدونيا كما اسلفنا ويوجد في مناطق عدة من حوض البحر المتوسط مثل تركيا-لبنان وغيرها،اما المعدنوس البري فتنسب نشأته الى سردينيا ثم دخل الى انكلترا واوربا واول زراعة له كانت عام 1584 م،وفي وقتنا الحاضر نلاحظ نجاح زراعته في كل مناطق الوطن العربي بما فيها العراق وان طريقة زراعته وامكانية الحصول عليه سهلة ومتاحة لدى كل من يريد ذلك (WWW.abib.Com 2008).

5-2-2:الخلفية الحضارية لنبات المعدنوس:**Cultural background of *P. crispum***

ان نبات المعدنوس واحد من ابرز النباتات الطبية ذات القيمة الغذائية والعلاجية وقد استعمل منذ اقدم العصور،اذ استعمله الاقدمون في علاج التهابات المعدة وكمذيب ومضاد للمغص والربو وضيق التنفس واورام الثدي كما ان قدماء المصريين (الفراعنة) قد أهتموا كثيراً بالمعدنوس، اذ عثر عالم المصريات جرابو على بذور واوراق النبات في بعض المقابر الفرعونية وذكر بانهم استعملوا المعدنوس في الكثير من وصفاتهم العلاجية لكثير من الامراض كما اعتقد بانهم استعملوها في التحنيط فضلاً عن المواد المستعملة الاخرى، اما الاغريق فقدأهتموا به كثيرا ووضعوه في مكانه عالية وكانت تصنع منه الاكاليل وتوضع على رووس الفرسان المنتصرين(WWW.6abib.com 2008).

6-2-2:اهمية نبات المعدنوس الطبية: **Medical importance of *P. crispum***

تنامت في الوقت الحاضرالمعرفة العلمية لاهمية المعدنوس العلاجية والطبية فضلاً عن أهميته الغذائية،أكدت احدث التجارب بان المعدنوس يعد من مضادات لاكسدة الخلايا التي تحميها من الاصابة بالسرطان وتنمي جهاز المناعة لديها ويرجع السبب لاحتوائه على فيتامين C، وعلى مستويات عالية من الفلافونات وخاصة مادة Apignin التي تعمل على الحد من انقسام الخلايا السرطانية لذلك فهو يساعد في علاج هذا المرض والحد من انتشاره (Nielsen *et al.*,1999).وقد اثبتت التجارب التي قام بها مجموعة من الباحثين ان الزيت المستخلص من نبات المعدنوس يعد بديلا طبيعياً كعامل مضاد للأكسدة وكابح للجذور الحرة (Zhang *et al.*,2006).كما اثبت Voraوجماعته(2008)ان المستخلص الايثانولي لنبات المعدنوس تأثير كبير في استحثاث العوامل المضادة للأكسدة في منطقة دماغ الفأر.

دراسات عديدة حاولت الكشف عن سر المعدنوس حتى وجد ان المعدنوس يحتوي على زيت طيار يدعى Myristicin وهومهم جدا ومن اهم مركباته الايبولApiole ويشكل هذا الزيت ومعه فيتامينات Aو B(B,B2,B3,B4) وفيتامينC واملاح الحديد والكالسيوم واليود الجوهر الفعال للنبات (Razzaghi-Abyaneh *et al.*,2007). ومن الجدير بالذكر ان نبات المعدنوس يحتوي على نسبة عالية من فيتامين C تعادل اربع مرات نسبته في الليمون أذ وجد ان كل 100 غرام من المعدنوس يحتوي على 165 مليغراما من الفيتامين وتحتوي الثمار على النسبة الكبيرة من الفيتامين والجذور على النسبة الاقل(رويحة وأمين،1983).وقد أظهرت مستخلصات نبات المعدنوس فعالية عالية كمضادات حيوية للبكتريا السالبة والموجبة

لصبغة كرام وبعض الفطريات (Ojala *et* al.,2000).ونظرا لما يحتوية المعدنوس من فيتامينات ، معادن وصبغات و زيوت طيارة و ومركبات فعالة بايولوجياً(Davis *etal.*,1997)، أستعمل لعلاج الكثير من الإمراض لذا يعد من الإعشاب كثيرة الاستعمال والتداول في الطب البديل والمكمل Alternative medicine علاج امراض مختلفة مثل عسر الهظم (Robbers *et al.*,1994) وازالة انتفاخ المعدة لأحتوائه على مادة الكلوروفيل Chlorophyllالتي تساعد على عملية الهضم كما انه يعالج إمراض الكلى والمجاري البولية كما انه يعمل على تفتيت حصى الكلية ويزيل احتباس الماء في الجسم(Atta *et al.*,1998) ، كما يستعمل في علاج إمراض المفاصل(Hoppe,1975) وان اوراقه المهروسة لعمل لبخة لعلاج التواء القدم والمفاصل و يعالج امراض الصدر والسعال والربو وانواع الرشح وقد استعماله الأقدمون لضيق النفس والربو وهو يعالج إمراض اخرى مثل الملاريا لاحتوائه على مادة Apiole ويستعمل كمطهر ضد البكتريا والفايروسات وتتجلى أهميته بأنه احد مكونات سلطة علاجية مكونة من المعدنوس ونباتات اخرى منها الثوم والبنجر والفجل والكرفس والجزر والخس والبصل لمعالجة السرطان ، ولاتتوقف أهمية المعدنوس عند هذا الحد بل تتعداه بانه يعالج امراض اخرى مثل فقر الدم وذلك لوفرة الحديد الحاوي على حامض الفوليك في النبات(Whitehouse *et al*,1999) كما انه يستخدم في ايقاف ادرار الحليب في الثدي ولاحداث الاجهاض عند الحوامل لاسباب طبية وهو يعد منشط للذاكرة ويستخدم لمعالجة مرض الطاعون الذي يعتبر مرض وبائي فتك بالعديد من الانفس وهو يعمل على إزالة التنمل من الجسم ويستخدم كمهدىء للاعصاب(رويحة وامين،1983)؛ ويستعمل زيت المعدنوس بتدليكه على الصلعة لتنشيط نمو الشعر ومنع تساقطه وهو يزيد من حيوية ونشاط الجسم بشكل عام كما انه ملين ومسهل طبيعي يساعد في انقاص الوزن لانه

فعال في اذابة الدهون ويفيد في افراز الصفراء في الكبد وهو مدرر للبول وان تقطير عصير المعدنوس في العين يستخدم في علاج الرمد كما ان غسل الوجه صباحا ومساءا بمغلي المعدنوس في الماء يؤدي الى نضارة الوجه والبشرة وازالة التجاعيد. ومن الجدير بالذكر فان المعدنوس هو دواء فعال لازالة المغص بمختلف انواعه كما ان زيت بذور المعدنوس يستعمل ضد الضعف الجنسي وفي تقليل اضطرابات والام الحيض وازالة الحمى ويستعمل مع الماء كغسول مهبلي لعلاج السيلان وان عصيره يهدىء الام الكليتين والمثانة والمجاري البولية (Bedir and khan.,2000) وان تدليك الجلد باوراق المعدنوس يمنع لسعات البعوض ويستخدم كعلاج للنمش(رويحة وأمين،1983) وبسبب رائحته الزكية يستخدم في ازالة رائحة الفم الكريهة.

3-2:التحليلات الوراثية-الخلوية: **Cytogentic analysis**

أعتمدت اللبائن أوخلاياها للكشف عن التأثيرات السمية الوراثية والخلوية للكثيرمن المواد الكيميائية والفيزيائية والبايولوجية داخل جسم الكائن الحي *in vivo* او خارج الجسم الحي في الزجاج *in vitro* لتحديد مقدار ونوع الضرر الحاصل في المادة الوراثية للخلية ولمعرفة قابليتها على استحثاث الطفرات الوراثية التي قد تؤدي الى ظهور السرطانات وان التغيرات الكروموسومية يمكن ان تحصل تلقائيا Spontaneous او من خلال عوامل تؤثر اما في الطبيعة التركيبية للكروموسومات او في ميكانيكية حركتها خلال الانقسام الخلوي فتظهر تلك التغيرات على نوعين اما نوعية مثل (النقص، الاضافة ، الانتقال، الانقلاب) او عددية مثل(اختزال العدد الكروموسومي او تضاعفه) وهناك العديد من الفرضيات التي توضح حدوث مثل هذه التغيرات فالاشعة- المؤينة Ionizing radiation للنظائر المشعة

Radioisotopes تؤدي الى التحطيم المباشر للعمود الفقري للـ(DNA) وتجعله ضعيفا سهل الكسر(Crook *et al*.,1986).

أستخدم هذا الأختبار للكشف عن التأثيرات الوراثية للعديد من المواد الكيميوية المستخدمة في بعض الصناعات فعلى سبيل المثال لا الحصر لاحظ الحكاك وجماعته، 1986 وجود زيادة معنوية عالية في معدل التغيرات الكروموسومية لعمال صناعة البطاريات في بغداد لتعرضهم المباشر لاوكسيد الرصاص أثناء العمل. كذلك اعتمد الكشف عن القابلية التطفيرية لبعض العقاقير فقد كشف ميكانيكية عمل المضاد الحيوي البكتيري Neomycin,Chloramphenicol أذ تعمل هذه على تثبيط بناء البروتين Protein synthesis، في حين أقترح Castoldi وجماعته (1969) ان تثبيط بناء البروتين يؤدي الى ضعف في العمود الفقري الكروموسومي الذي يؤدي الى التغيرات الكروموسومية ،اما (Manna,1971) فيشير الى العوامل الفيزيائية و الكيميائية والمطفرات الحيوية التي تعمل على كسر في الكروماتيد بسبب تغير الظروف (البيئية) الفيزيائية والكيميائية في النسيج. في حين اشارت الدراسات الوراثية الى قابلية العديد من المواد المضادة للسرطان الى قابليتها على تحطيم المادة الوراثية الـ(DNA) وبالتالي تعيق استمرارية الأنقسامات الخلوية ،بين Miura واخرون(1983) ان عقار المايتومايسين سي (Mitomycin-C-) يؤدي الى تكوين تغيرات كروموسومية في الخلايا اللمفية، في حين اشار Pillan وجماعته(1989) الى قابلية عقارالسايكلوفوسفوآمايد(Cyclophosphamide) في أحداث التغيرات الكروموسومية لكسور اشرطة الـ(DNA) في النسيج الرأسي لأجنة الفئران

2-3-1- آختبار معامل الانقسام: Mitotic index assay

أعتمد هذا الأختبارالذي يمثل نسبة عدد الخلايا المنقسمة في المراحل الأنقسامية المختلفة الى العدد الكلي للخلايا في دراسات عديدة فعلى سبيل المثال لا الحصر طبق هذا الاختبار لبيان التأثير السمي الوراثي الخلوي للعديد من المواد الكيميائية والفيزيائية والبايولوجية ،حيث أشار Littefield وجماعته ،(1980) الى تأثير عقار المايتوماسين سي (Mitomycin-C) في تثبيط معامل الأنقسام للخلايا اللمفاوية في الانسان في حين اشار Ataya وجماعته (1989)؛ الى تأثير عقار السايكلوفوسفوآمايدCFA في تثبيط معامل الأنقسام لخلايا نقي العظم للجرذ.وأستخدم هذا الأختبار للكشف عن التأثير السمي والتطفيري لبعض النباتات الطبية مثل*Bauhinia canolican,Maytenu ilicifolia*. من خلال المستخلصات المائية أذ لوحظ لها تأثيرات ضعيفة في معامل الأنقسام MI(Marjori *et al*., 2002).كما درست التأثيرات الوراثية والخلوية لبعض النباتات الطبية المحلية ، فقد وجدت النعيمي، (2007) ان المستخلص الأيثانولي لنبات الكبر *Capparis spinosa* والمستخلص الميثانولي لنبات الحميض *Rumex acetossella* يؤدي الى زيادة معامل الأنقسام الخلوي للفئران المختبرية، اما السعدي (2008)؛ فقد لاحظت أنخفاض دليل الأنقسام لجذور البصل *Allium cepa* المعاملة بالمستخلص القلويدي الخام لنبات المديد *Convolvulus arvensis* ، كما لاحظت الباحثة تثبيط لمعامل الأنقسام الخلوي في نقي العظم للفئران المختبرية، في حين لاحظت العبيدي،(2008) أرتفاع في قيمة معامل الانقسام الخلوي لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية المعاملة بالمستخلص الكحولي لنبات القيصوم *Achillea millefolium* .

2-3-2- آختبار تشكيل النوى الصغيرة: **Micronuclei test (assay)**

يحصل تشكيل النوى الصغيرة في السايتوبلازم نتيجة لحالات الحذف Deletion او الفقدان Exclusion للقطع المركزية من الكروموسومات أذ تفشل في أنسحابها الى آحد قطبي

الخلية المنقسمة نتيجة لعدم آرتباطها بخيوط المغزل آثناء الطور الأنفصالي Anaphase وتبقى في السايتوبلازم،أن تشكيل النوى الصغيرة يعد من الأختبارات المهمة لتقييم السمية الوراثية للعديد من المواد الكيميائية والفيزيائية والبايولوجية والتي تشير الى مقدار الضرر في (DNA) ،اذ وجد زيادة نسبة ظهورها يتناسب طرديا مع زيادة الجرعة للاشعة السينية (Tice *et al.*,1990) في حين لاحظت العبيدي،(2008) ان المستخلص الكحولي لنبات القصيوم *Achillea millefolium* أدى الى أنخفاض التكرار التلقائي والمستحث لعقار السايكلوفوسفوآمايد لتكوين النوى الصغيرة في مزارع الخلايا اللمفاوية،كما وجد صالح،(2007) ان التجريع داخل بريتون الفئران السليمة بواقع جرعة واحدة كل يومين (500 ملغم/كغم) للغذاء الملكي و(800 ملغم/كغم) للعكبراو لمدة 28 يوماً لم يكن له تأثيراً سمياً على معامل انقسام النوى الصغيرة كما لاحظت الاوسي،(2006) ان مستخلص الكأس من نبات الحبة السوداء رفع قيمة الانقسام الخيطي واصلاح التشوهات الكروموسومية وخفضه نسبة تكوين النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم للفئران،كما وجد كريم،(2007)ان المستخلص المائي للزعتر البري لم يكن ذو تأثير سلبي على تكوين التغيرات الكروموسومية وتشكيل النوى الصغيرة.

2-3-3-آختبار التغيرات الكروموسومية : **Chromosomal aberration assay**

يمكن ان تحدث التغيرات الكروموسومية تلقائيا Spontaneous اومن خلال عوامل مؤثرة (فيزيائية وكيميائية وبايولوجية) في طبيعة الكروموسوم،أعتمادا على قابليتها في التداخل اوالتفاعل مع جزيئة الDNA وحصول ضرر في تركيبه.يمكن ان تحصل التغيرات الكروموسومية اما نتيجة لحدوث كسر في احد الكروماتيدين (كسر كروماتيدي) او كليهما (كسر كروموسومي)،ويعتمد نوع التغير على موقع الكسر او أعادة ترتيب أشرطة الDNA

بصورة تختلف عن حالتها الطبيعية.أن آلية حدوث هذه التغيرات الكروموسومية غير معروفة لحد الأن،الا أن هناك بعض الاراء والفرضيات التي توضح حدوثها وهي:

أ- تعمل الأشعة المؤينة Lonizing radiation والمواد المشعة Radioisotopes وبعض الأدوية على أستحثاث التغيرات الكروموسومية عن طريق التحطيم المباشر للعمود الفقري لل(DNA) بتأثيرها في عمليات بناء البروتينات الكروموسومية.

ب-دخول بعض المواد بين أشرطة ال(DNA) لتؤدي الى أستحثاث التغيرات الكروموسومية مثل المواد الشبيهة بالقواعدBase analoges.

يتم الكشف عن التغيرات الكروموسومية عادة في الطور الأستوائي Metaphase

آجريت العديد من الدراسات لبيان تأثير أنواع مختلفة من المستخلصات النباتية للكشف عن قابليتها في أستحثاث التغيرات الكروموسومية.وذلك لتقييم التأثير السمي الوراثي في كروموسومات اللبائن سواء كان ذلك في الخلايا الجسمية او الخلايا الجنسية . ففي دراسة أجريت على مستخلصات اوراق الحبة السوداء *Nigella sativa* لوحظ قابليتها على أصلاح التشوهات الكروموسومية في الفئران المختبرية (الاوسي، 2006).

ويبين المستخلص الأيثانولي لنبات الكبر والمستخلص الميثانولي لنبات الحميض نقصان في التغيرات الكروموسومية (النعيمي،2007)، كما ان المستخلص الكحولي لنبات القصيوم *Achillea millefolium* كان فعالا في خفض التكرار التلقائي والمستحث لعقار سايكلوفوسفامايد لتكون النوى الصغيرة في مزارع الخلايا اللمفية ،وأدى الى خفض معدل التشوهات في رووس النطف.(العبيدي،2008).

4-2:السرطان: Cancer

مرض قديم وصفت إعراضه في مخطوطات المصريين 2000 ق . م ، ووصف ابو قراط عدة أنواع كسرطان الثدي والرحم والمعدة والجلد وسماه بهذا الاسم ولم يعرف كمرض مستقل الا مع ظهور الحضارة الحديثة ولم يعرف علاج له سوى التدخل الجراحي ومع التطور التكنولوجي في القرن العشرين ظهرت المعالجة الاشعاعية والكيميائية والمناعية والجنينية.(Pazdur *etal*,.2001)

نمو عشوائي غير متناسق لخلايا نسيج ما ، تختلف بشكل واضح عن مثيلاتها في الخلايا الطبيعية ولذا تختلف وظيفتها ايضا حتى بعد زوال المؤثر (Walter *etal*,.1996) وتعطي كتلة متضخمة تدعى بالورم (Tumer) وتبدا بالضغط على الأنسجة المجاورة وينتقل الى الأعضاء الحيوية الاخرى (Kufe *etal* ,.2003) .

تكون الأورام السرطانية على شكل ثلاثة مجاميع (Cooper,1997)

1- سرطان النسيج الطلائي Carcinoma تشكل 90%.

2- سرطان الانسجة Sarcomas وتشمل الاورام الصلبة Solid tumar التي تصيب العضلات والعظام والغضاريف والنسيج الليفي.

3- سرطان ابيضاض الدم والعقد اللمفاوية Leukemias & Tymhomas تشكل 8% وتتكون في الخلايا المكونة للدم وخلايا الجهاز المناعي .

تصنف الأورام إلى :-

1-الأورام الحميدة Bengin tumar تكون مشابهة بالشكل والوظيفة لخلايا النسيج الناشئة منه ، وتتميز بوضعها ولا تنتقل الى مناطق اخرى وذات نمو بطيء وعند استئصالها لاتعود للنمو

مرة ثانية .عادة تغلف بنسيج رابط على شكل محفظة ليفية كما هي الحال في اورام الرحم الليفية والمستقيم والشامات ، قد تضغط هذه الاورام على العضو المصاب فتؤثر في عملها بشكل طبيعي(Stevens and lowe,2000).

2-الاورام الخبيثة Malignat tumar كتلة نسيجية مختلفة من ناحية التركيب والوظيفة عن النسيج الذي نشأت منه ، الخلايا متعددة الإشكال وتباين احجامها و تمتاز بزيادة معدل الانقسام فيها ووجود تشوهات كرموسومية (Stevens and Lowe,2000).

1-4-2:نشوء السرطان: Carcinogenesis

يبدأ التسرطن من خلال نشوء ورم بسيط ،ثم يتحول الى ورم خبيث عن طريق سلسلة من العمليات التي تؤدي الى تحول الخلية الطبيعية الى خلية ورمية ،تبدأ هذه العملية بالتعرض الى مؤثر داخلي او خارجي (مطفر مسرطن) وتنتج عنه طفرة في DNA تمر العملية بثلاث مراحل :-

1-مرحلة البدء Initiation stage غير قابلة للإعادة وتبدا بالخلية اثناء تعرضها لعامل مسرطن بوقت كاف لحدوث تغير في المادة الوراثية وكسر احد خيطي DNA فتتحول الى خلية طافرة (Russel,1998;Pitot *etal* ,2000).

2-مرحلة التحفيز promotion stage قابلة للاعادة Reversible وتتحول الى خلايا سرطانية بعملية التحول transformation نتيجة عوامل خارجية تدعى المحفزات Promoters وهي عوامل غير مسرطنة اذ تؤثر مباشرة في المادة الوراثية وتجعل الخلية عرضة لطفرات وراثية فتفقد وظيفتها وتنشط في النمو والتكاثر (Russell,1998) .

3-مرحلة التقدم progression stage وهي اخر مرحلة يكبر فيها حجم الورم ويصبح اكثر خطورة فيدعى بالورم الاولي Primary tumor (Mac Sween &Whalcy,1997) لحاجة الورم الى تغذية سريعة ومستمرة فيبدا بتكوين اوعية وقنوات دموية خاصة به باطلاق مواد كيمياوية تؤثر في الاوعية المجاورة بعملية التشكل الوعائيAngiogenesisعلى حساب الخلايا المجاورة (Folkman ,2003).

يختلف نقص انتشار الأورام تبعا للأنواع فتمتلك بعض الخلايا السرطانية جزئيات على سطحها ترتبط بمستقبلات خاصة على الأوعية الدموية او اللمفاوية لتخترقها (Noruzinia *etal.,* ,2005).

2-4-2:وبائية السرطان: Epidemiology of cancer

تشير العديد من الدراسات الى ان الدول المتقدمة اكثر عرضة للإصابة بالسرطانات المختلفة ، إشارت إحصائية للوكالة الدولية لبحوث السرطان (IARC) Internatinal Agency For Research On Cancer الى ان معدل الاصابة سنة 2002 في العالم هي 10.9 مليون إصابة (Parkin *et al.,2005*).

3-4-2 مسببات السرطان: Cusing of cancer

المسببات الكيميائية **Chemical carcinogens**

يوجد الكثير من العوامل الكيمياوية التي يستعملها الأنسان أو يتعرض لها بين الحين والأخر قد تسبب السرطان اذ أنها قادرة على أحداث تغيرات خلوية على المستوى الجيني وقد تكون هذه التغيرات دائمية مسببة الطفرة الدائمية وتسمى بالطفرة الجسمية Somatic

mutation (Feoron & Vogelstein , 1990)، وقد تكون هذه التغيرات مؤقتة وتنتهي وأن كلا القسمين يؤثر في نمو الخلية أو قد يسبب موتها (Yuspa *et al* .,1994). يعد دخان التبغ الناتج م تدخين السجائر من العوامل المسببه لمرض السرطان اذ ترتبط المادة المسرطنة الموجودة فيه بشريط الـ(DNA) مما يسبب العديد من أنواع السرطان كسرطان المريء والبلعوم والحنجرة والتجويف الفمي والأنفي والبنكرياس والكبد والجهاز البولي وسرطان الرحم (Phillips,2002;Schoket,2004) كما ويعد الكحول وكثرة تعاطيه من العوامل المهمة والبارزة المسببة للسرطان فقد يسبب سرطان الفم والحنجرة والمريء والكبد (Aronson,2003) .وأن الكحول الأثيلي مسرطن كيميائي له الصيغة الكيمياوية (C_2H_5OH) تتم ميكانيكة التأثيرات في فعالية إنزيمات أزالة السم Detexfing المسؤولة عن تأيض الكيميائيات المسرطنة وهي (Isoenzymes) مثل سايتوكروم (P450) الذي يؤيض الكيميائيات منتجآ مواد اقل أو أكثر سمية من المركبات الأولية (Yang *et al* .,1994) ويحفز اكسدة الأيثانول والأستيت وهي نواتج مسرطنة (Yang *et al*.,1992) ويعد البنزين ومشتقاته من المواد الكيميائية التي لها تأثير في الأصابة بمرض السرطان حيث أنها تسبب أبيضاض الدم وسرطان الخلايا اللمفية Lymphoma (Nicholsons & Landrigan,1989) .كما أن أمينات النتروز والنترات والنتريت Nitrates,Nitrites,Nitrosamines من المواد المسرطنة اذ أن الأمينات الأولية والثانوية وحوامضها تمتاز بسميتها الوراثية وفعاليتها المسرطنة لقدرتها على التفاعل مع الجزيئة الخاوية لتشكل عوامل الألكلة المسرطنة Alkalating agents.وان الزرنيخ Arsenic يعد من المركبات المسببة للسرطان رغم أنه يستعمل في علاج سرطان أبيضاض الدم الحاد ألا أن التعرض أليه يسبب تغيرات كروموسومية اذ يرجح تأثيره في التمامات نهاية الكروموسومية End to end fusions وذلك

بسبب تأثيره التثبيطي في أنزيم التيلومريز Telomerase وهذا ما يسبب أضرارا في نهاية الكروموسومات والحث على أحداث التسرطن Carsinogenesis أو موت الخلية السرطانية وهنا تتوضح الفعالية المتناقضة للزرنيخ أذ قد يسبب السرطان أو يعالجه (Chou *et al*., 2001) .كما أن العديد من انواع الأدويةDrugs تعزز نمو الأورام السرطانية بعد التعرض للسرطانات ومن هذه الأدوية Amitriptyline , Desipramine , Fluoxetine (Brandes *et al*.,1992). وأن الأدوية التي تستعمل لعلاج الشد العصبي مثل Reserpine َيسبب سرطان الثدي في الأنسان (Weiner *et al*.,1999).وأن العديد من العقاقير التي تحث عوز فيتامين E,C تؤدي الى التسرطن ومن هذه العقاقير Prednisone .

المسببات الفيزيائية : **Physical carcinogens**

أ-الألياف المعدنية Mineral fibers

تعد الألياف المعدنية من العوامل الفيزياوية المسببة للسرطان ومنها ألياف الأسبستوس Asbestos fibers حيث أن السبست يوجد في الماده الأولية الأساسية في الغذاء كالخضراوات واللحوم والزيوت كما توجد في الأسمنت المستخدم للبناء ، وأألياف الأسبست تعمل من خلال تأثيرها بأليات معينة على تطور أمراض السرطان بمختاف أنواعه (Weitzman and Grance,1995;Hansen and Mosman,1997). وأن هذه الألياف تحفز التشوهات الكروموسومية والطفرات الجينية وتبادل الكروماتيدات الشقيقة والتحول السرطاني Transformation neoplastic وحذف في الكروموسومات (Ault *et al*.,1995;Hester berg and Barrett,1995). كذلك فأن ألياف السيليكا Silica fibers تحتوي على مواد مسرطنة تدخل أجسام العاملين في المصانع بواسطة الأستنشاق مسبب لهم سرطان الرئة (Hoet *et al*.,2004).

ب-الأشعاع : **Radiation**

يؤثر الأشعاع المؤين مباشرة من خلال تفاعله مع أنظمة حياتية أما تأثيراته غير المباشرة فتتم بأطلاق جذور أيونية حرة مع المحاليل وتنتج أضراراً في جزيئة الDNA فتحفز عمليات الأكسدة فتؤدي الى السرطان(Upton,1991).أما الأشعاع غير المؤين فيتمثل قي المجالات المغناطيسية الألكترونية ومنها أستعماله في المتلازمات العصبية النفسية (Danilin *et*

al.,1999) ويحدث الأشعاع غير المؤين عملية نزع الحبيبات لكريات الدم البيض متعددة الأشكال وبهذا يسبب أبيضاض الدم (Paptheofanis,1990).

المسرطنات الحياتية: **Biological carcinogens**

هناك العديد من المسرطنات الحياتية التي تسبب السرطان اذ أن سرطان الثدي وبطانة الرحم والبروستات ناتجة عن الهرمونات السترويدية Steroid hormones المحفزة لنمو الخلايا والتكاثر في الأعضاء الجنسية والجسمية (Soto and Sonnonschen,2005) تؤدي الأصابة ببعض أنواع البكتريا الى زيادة خطورة السرطان كما هو الحال في بكتريا *Helicobacter pylori* المسببة لألتهاب المعدة (Versalovic,2003) الذي يمثل مرحلة وسطية في نشوء سرطان المعدة (Correa,1992) فضلاً عن ذلك فأن هناك بكتريا مرضية مسرطنة كما في *Helicobacter hepticus* التي تحفز التهاب المعدة والأمعاء وتطوره (Tomczak *et al*.,2001).كما أن هناك بعض الفطريات التي قد تسبب الأصابة بالسرطان وأبرز هذه الفطريات هي التي تعيش على الأغذية المخزونة اذ تفرز سموما فطرية Mycotoxin وهي نواتج أيض ثانوي Secondary metabolism مثلا السم الفطري Aflatoxin B1 (AFB) المفرز من الفطريات *Aspergillus flavuns* وغيرها (Abarca *et al* .,2000) وهو مسبب خطر لسرطان الكبد Hepatocellular carcinoma (Madden *et al* .,2002) حيث أنه يعمل على تشويه الحلزون Helix مما يؤدي الى حصول طفرات وتتمثل بغرس أو شطب قطعة كاملة من القواعد النتروجينية خلال عملية تصنيع ال(DNA).وهناك العديد من الفايروسات التي تسبب الأصابة بالسرطانات ويطلق عليها بالفايروسات الورمية Tumor virusis (Russell ,1998)، أذ تعمل هذه الفايروسات أما

على تنشيط غير طبيعي للجينات الورمية الأولية ومن ثم تسبب السرطان أو استنساخ الجينات الورمية الفايروسية ومن ثم تسبب السرطان أيضاً (Steven and lowe ,2000) وهناك العديد من أنواع هذه الفايروسات كما في فايروس خلايا نوع T نوع I, II وهي
Human T-cell Lymphotropic Virusis type I and II (HTLY-I and HTLY-II)
اذ أن فايروس HTLV-I هو العامل السبب لسرطان أبيضاض الخلايا اللمفاوية الثانية T- cell lymphoma(Hollsberg,1999) بينما يعتقد أن النوع HILV-II له علاقة بأبيضاض الخلايا التائية الشعري Hairy T-cell Leukemia (Cooper,1997). والنوع الثاني من هذه الفايروسات هي فايروسات ألتهاب الكبد Hepatitis B and Hepatitis C virusis وأن كلا هذين الفايروسين يسببان سرطان الكبد Hepatocellular carcinoma (Tang ,2001) والنوع الثالث من الفايروسات هو فايروس الورم الحلمي Human papilloma viruse (HPV) ولهذا الفايروس علاقة بالأصابة بسرطان عنق الرحم Cervical cancer وسرطان الخلايا الحرشفية Squamous cell carcinoma (Pornthanakasem *et al*.,2001) أما النوع الرابع فهو فايروس إبستاين –بار Epstein-Barr virus (EBV) ينتقل الفايروس بوساطة طفيلي الملاريا وقد لوحظ بأنه مصاحب لأكثر من90% من حالات سرطان بيركيت اللمفاوي Burkittis lymphoma وكذلك لوحظ بأن له علاقة بسرطان المعدة وأبيضاض الخلايا اللمفاوية البائية B-cell lymphocyts (Kang *et al*.,2005) كما أن القليل من الطفيليات Parasites لها علاقة بمرض السرطان ومن اهم هذه الطفيليات *Schistosma haematobium* اذ ان له علاقة بسرطان المثانة Bladder cancer (Khurana *et al* .,2005) وكذلك طفيلي *Opisthorchis Viverrini* الذي له علاقة قوية بسرطان عصارة القناة الصفراوية Cholangion carcinoma (Khurana *et al*)

2005.,) وتزداد خطورهذه الطفيليات للأصابة بالسرطان بوجود ديدان الكبد *Clonorchis* *Sinensis* (Parkin *et al*.,1993) .

العوامل الوراثية: **Genetic factors**

تنتج عن توارث جينات مسؤولة عن السرطان ، تصنف الى صنفين هما الموروثات الورمية Oncogenes وهي موروثات ورمية اولية توجد في نواة الخلية الطبيعية (Varmus,1994) تنشط هذه الموروثات بالانتقال الكروموسومي (Chromosomal translocation) كما في (chronic myelocytic leukemia) او بالتضخم الجيني (Gene Amplication)كما في(Pulmonary carcinoma) او عند حدوث تشوهات باشرطة (DNA) والطفرات النقطية او خلال اعادة ترتيب (DNA) او عند ادخال المحركات او المحفزات (Promotor insertion) او إدخال المعززات (Enhancer insertion)(Reddy *etal* .,1992;Hemminki ,1993). وهناك صنف اخر من الجينات هي الكابحة للأورام (Tumor suppressor genes) وهي تشفر الى بروتينات وتكبح تحول الخلايا وتعزز توقف نموها وتمايزها وتستحث الموت المبرمج (Clark *etal* .,1993)من أهم الجينات P^{53} وزنه الجزيئي 53 كيلو دالتون الذي ينظم تعبير جينات عديدة ويسلك سلوك عامل سيطرة عند ضرر(DNA)وتشوهه ويمثل البروتين مفتاح ابتداء الموت المبرمج فحدوث الطفرات في مثل هذه الجينات يؤدي للإصابة بانواع مختلفة من السرطان (Tsugis and Ogawa,1994).

2-4-4 :طرائق علاج السرطان: **Methods of Cancer treatment**

العلاج الإشعاعي: **Radiotherapy**

تنص فرضية حث الإشعاع (Radiation hormeses) على ان المستويات الواطئة في الاشعاع الايوني ذات فعل تحفيزي لعمليات بايولوجية خلوية كتحفيز انظمة اصلاح(DNA) (DNA) repair system وتفيد العديد من جينات الاصلاح (Oliver *etal*., 2004;Hickson,2006) وفعالية انزيمات ازالة السم بكسر الجذور الايونية الناتجة عن الاشعاع كما يفرز قدرة الحماية في التعرض للاشعاع مستقبلا (Loken&Fenen degen,1993) فضلاً عن هذه الفوائد هناك اضرار جانبية للعلاج كأضمحلال النسيج البرنكيمي للخلايا الجذعية وتليف في الامعاء والرئة فضلا عن تساقط الشعر (Suit&Todorok,1995) وجاءت تقنية المتحسسات الشعاعية مثل (Misiodozole) و(Nitroimidgole) التي تسبب تسمم الخلايا الورمية نتيجة نقصان جريان الدم في الشعريات المغذية للورم (Fertile and Malaie , 1995).

العلاج الكيميائي: **Chemotherapy**

يتضمن ثلاثة اصناف من المواد الكيميائية ذات الدور العلاجي المهم للسرطان :-

1- تثبيط تنشيط المسرطنات الأولية الى مسرطنات وسطية مثل مضادات الاكسدة اوالجزيئات الكاسحة (Kornhauser *eta* ,1996) التي تتضمن الفيتامينات الذائبة في الماء والدهون والعناصر المعدنية والمواد الكيمياوية المشتقة من النباتات .

2-مثبطات ابتداء السرطان او العوامل الغالقة التي تمنع السرطان من التفاعل مع مراكز حيوية في الخلية (Siess *etal*., 1992).

3-العوامل الكابحة وتثبط المراحل المتاخرة لتقدم السرطان وتشمل أكثر من (1000) مركب مصنفة ضمن 25 صنفا من المركبات المشتقة من النباتات (Federall Register.,1993;Dragsted *etal*.,1993).

العلاج المناعي: Immunotherapy

يعتبر العوز المناعي Immunodeficiency احد اهم الأسباب المؤدية للسرطان تكاثر الخلايا الطبيعية والسرطانية يعتمد على جزيئات تنتج من خلايا مناعية تعرف بالمدورات مثل الساتيوكينات Cytokines والانترليوكينات Interleakins والانترفيرونات Interferons (Rosenberg,1997) .

العلاج الهرموني: Hormonal therapy

يتضمن استعمال عقار يحل محل او يتدخل مع وظائف الغدد الصم يؤدي الى تثبيط ورم الغدد اللبنية التلقائي او المستحث (Oklsborne *etal.,* 2000; Weisch, et al., 1998) فهي تعمل كمثبطات للتخليق الحيوي، للأستروجين وأصناف أخرى تعمل كمثبطات او محفزات افراز هرمون تصنيع الحليب مثل (Bromo cryptine) (Weisch *etal.,* 1990;Weisch&DeHoog,1993).

العلاج الاوزوني: Ozone therapy

يحفز الاوزون فعالية الانزيمات المضادة للأكسدة ويحفز افراز الانترفيرون وعامل تنخر الورم (Pryor and Lightsey, 2003; Kennedg *etal* ,1999) وله بعض الجوانب السلبية اذ يكبح مثبطات انزيمات (Cycolxygenase) الضرورية للتخليق الحيوي للبروستاكلاندنيات فتنتج زيادة بالاخيرة المحفزة للتسرطن (Schelyle *etal*.,1997).

العلاج الجراحي : **Surgical therapy**

تعد هذه التقنية هي الافضل لعلاج الاورام الصلبة وتتضمن استئصال الانسجة المسرطنة (Bourgaize *et al*.,2000) ومن ضمنها الاوعية الدموية المغذية للنسيج والغدد اللمفاوية وتعتبر هذه التقنية فعالة لعلاج مختلف السرطان كسرطان البروستات والرحم والثدي.

العلاج النباتي: **Plant therapy**

يعد طب الاعشاب فرع من فروع الطب المكمل او البديل،وذلك لان النباتات تؤدي دوراًمهماً في حماية صحة الانسان وتحسين مسار حياته،وقد استعملت الأعشاب كغذاء ودواء لقرون عديدة،ونحن اليوم نشهد مدى واسعاً من أستعمال النباتات للعلاج (Craig,1999).وقد عرفت المكونات النباتية بانها المصدر الفعال لعلاج الكثير من الامراض،اذ ان معظم الادوية المعروفة والستخدمة حالياًهي من المكونات النباتية (Ghersi *et al*.,2005)،وان العديد من هذه المكونات تعد ذات اهمية في علاج مرض السرطان والحد منه،وان احد هذه المركبات هي مركب proteoglycan المعزول من الاجزاء الهوائية لنبات المديد حيث انه يعمل على تثبيط نمو الاورام السرطانية في الفئران ضرب Lewis lung بنسبة وصلت الى77% من وزن الورم (Meng, *et al*., 2002)،وان مركب lycobetaine هو مركب قلويدي يوجد في العشب Lycaris radiate له القابلية على معالجة سرطان عنق الرحم والمبايض والمعدة فضلا عن قابليته كما يحتوي فول الصويا على تراكيز عالية من Genistein وهو من المركبات الفلافونويدية وهناك مايدل على ان هذه المادة تثبط عدداً من انواع السرطان مثل سرطان المعدة والبنكرياس والكبد والبروستات من خلال منع نمو الاوعية الدموية الجديدة الى

الاورام(Duke,1993).ومن أهم الدراسات الحديثة هي التي قام بها (العتابي،2001)التي درس فيها التأثير التثبيطي لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ *Withania somnifera* في خط su-aa لخلايا البلازما السرطانية الفأري plasmacytoma في الزجاج واظهرت النتائج تثبيطا عالياً للمستخلص عند استخدامه بتراكيز125 مايكروغرام/مل سبعة ايام من الحضن.وتوصل (الحلي،2004)الى ان لنبات السعد *Cyperus rotundus* فعالية سمية ضد الخطوط السرطانية الثلاث وهي RD,Hep-2 وخط AMN3 لسرطان الغدة اللبنية الفأري،كما اثبت (الحلي،2009)الى ان المستخلصات الخام والمنقاة للجذوروالعقد الجذرية لعشب السعد لها تأثير تثبيطي وبشكل واضح على كل من الخطوط الخلوية السرطانية (Vero¡HeLa¡RD¡HEP-2¡AMN-3¡GB) كما وجد ان تلك المستخلصات ليس لها اي تأثير تثبيطي معنوي على الخط الاولي الطبيعي REF كما اشارت النتائج ان للمستخلصات الثلاث لعشب السعد القابلية المعنوية العالية كمضادات الاكسدة،ذلك لقابليتها على التأثير في حالة الاكسدة والاختزال للخلايا السرطانية سلباً وايجاباً وبالتالي زيادة القدرة على التخلص من الجذور الحرة المتولدة نتيجة التسرطن وكذلك استحثاث عملية الموت المبرمج للخلايا السرطانية،كما ان المستخلص الفينولي للاجزاء النباتية له القابلية على كبح تكوين الاوعية الدموية الجديدة المساعدة على انتشار وتطور السرطان.

Summery

This study amid to investigate the effects of crude ethanolic extraction of *Petroselium cripum* seeds and leaves one bone marrow of lab mice (*Mus musculus*) and on the proliferation of the cancer cell lines (Hep-2, HeLa and AMN-3). Chemical components of seeds and leaves extract were studied and were found that seed, contain, Flavonoids steroids and Glycosides. Leaves contain saponins, resins, alkaloids, terrenes, steroids, tannins, flavonoids and glycosides. Twenty five mg of crude alcoholic extract was obtained from 50 gm of seeds with percentage of 0.05% and 0.08% of dry leaves.

Cytogenic effect of 250,500,1000 and 2000 mg/kg of the extract were study in somatic cells (Bone marrow cells) in lab mice at of 7,14,21 and 28 days intervals. Results indecated significant inhibition in cell division at 250 and 500 mg/kg at 12 and 28 days comparing with the control while the extract reveals small decrease micronulei formation and chromosomal abervations.The cytotoxicity of cancer cell line of concentration of (0.95, 1.9,3.8,7.7,15.5,31.25,62.5,125,250,500,1000,2000,3000,4000,6000,8000 , 10000, 12000 and 16000)µg/ml showed there was no inhibition observedat concentration (o.95,1.9,3.8,7.7,15.5,31.25and 62.5)µg/ml. While at concentration of 250,500 and 1000 mg/ml the inhibition percentage was less than 50%.But at concentration of 2000 and 4000µg/ml the inhibition percentage was(63%,66%) respectively at while after 48hrs the concentration of (6000,8000,10000,12000,14000 and16000)µg/ml the inhibition percentage was more than70% at this study was found that the alcoholic extract hase toxic effect on cancer cell lines,on hep-2 70.242% of inhibition at 6000µg/ml and 75.778% of inhibition at16000µg/ml after 24hrs; inhibition percentage was 71.626% and77.093% at 6000µg/ml and 16000µg/ml respectively.but after 72hrs the inhibition was 72.594% and 77.136% respectively,the inhibition percentage of HeLa cell line was 73.840% and 79.238% at concentration of 6000µg/ml and 16000 µg/ml after 24hrs the percentage79.930% at concentration 6000 µg/ml to 86.505% at concentration16000 µg/ml after 48hrs. exposure and the percentage was 82.353% at concentration 6000 µg/ml to 88.581% at concentration16000 µg/ml after 72hrs .On AMN-3 cell line the inhibition percentage was71.97% and78.20% at

concentration of ml6000µg/ml and 16000µg/ml after 24hrs; while after 48hrs the percentage was 74.04% and 80.96% respectively,but after 72hrs the percentage was 75.08% and82.69% respectively.From this result we can concluded that this plant have a promising medicinal plant for effect on cancer,through out the toxic effects on cancer cell lines.

*الاوسي،زينب سعد عبد الغني (2006). استجابة الاجزاء النباتية لنبات الحلبة السوداء للزراعة النسيجية ودراسة المادة الفعالة فيها على خلايا نقي العظم في الفئران. رسالة ماجستير، الى كلية العلوم – جامعة النهرين.

*التميمي،مروة عامر حسين(2007).تأثير المستخلصات الكحولية الخاملبذور واوراق نبات الكرفس var dulce *Apium graveolens* في سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في اناث الفئران البيض.اطروحة دكتوراه ،كلية العلوم للبنات-جامعة بغداد.

*الجريصي، ياسر حسن زيدان.(2007) دراسة تأثير المستخلصات الخام لثمار ونوى الزهدي *Phoenix dactylifera* Cultivar Zahdi في تثبيط نمو بعض خطوط الخلايا السرطانيه في الزجاج وفي علاج سرطان الغدة اللبنيه المغروس في الفئران البيض.رسالة ماجستير. كلية العلوم-جامعة بغداد.

*الحلي، زيد عبد المنعم علي(2004). تأثير المستخلصات الخام لعشب السعد *Cyperus rotundus L.* في تثبيط نمو الخطوط الخلويه السرطانية. رسالة ماجستير، كلية العلوم-جامعة بغداد.

*الحلي، زيد عبد المنعم علي(2009).دراسة التأثير السمي والمضاد للأكسدة والمضاد لتكوين الاوعية الدموية الجديدة والحث على عملية الموت المبرمج للمستخلصات الخام والمنقاة جزئياً لعشب السعد.L *Cyperus rotundus* في مختلف الخطوط الخلوية السرطانية. اطروحة دكتوراه،معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الأحيائية-جامعة بغداد.

*الربيعي ،عمر حسين خلف(٢٠٠٨).دراسة مرضية ومناعية ووراثة خلوية لتأثير المستخلص الخام لنبات البربين *Portulaca oleracea* L في علاج سرطان الغدة اللبنية المغروسة في اناث الفئران البيضاء ،رسالة ماجستير ،كلية الطب البيطري-جامعة بغداد.

*السعدي، اسيل ياسين كاظم(2008). تأثير المستخلص المائي الخام لقشور الرمان على خطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج والفئران، رسالة ماجستير، كلية العلوم-الجامعه المستنصرية.

*السعدي،نمارق هادي منصور(2008).تأثيرالمستخلص القلويدي الخام للاوراق المديد *Convolvulus arvensis L.* في الأنقسام الخلوي .رسالة ماجستير.كلية العلوم-جامعة بغداد

*الشامي،سامي اغا (1982).دراسة بعض الصفات الوراثية والسمية لازهار القصيوم.رسالة ماجستير،كلية الطب البيطري-جامعة بغداد.

*الشيباني،رغد ضياء عبد الجليل (2006).دراسة تأثير مستخلصات أوراق نبات الدفلة *Nerium oleander* الخام والنقية في الخلايا الطبيعية وخطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج وفي الفئران البيض.اطروحة دكتوراه،كلية العلوم-الجامعة المستنصرية.

*العبيدي،شيماء يوسف عبد الفتاح (2008). تقييم بعض التأثيرات الوراثية –الخلوية والمناعية للمستخلص الكحولي لنبات القصيوم *Achillea millefolium* في الحي (ذكور الفأر الابيض) والزجاج (خلايا لمفية بشرية). رسالة ماجستير .كلية العلوم للبنات-جامعة بغداد.

*العتابي،شلال مراد حسين(2001).تأثيرالمستخاص الكحولي الخام لاوراق نبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في نمو الخلايا السرطانيةفي الزجاج وفي بعض المعايير الفسلجية في الفئران.اطروحة دكتوراه،كلية الطب البيطري-جامعة بغداد.

* العقيلي، صالح رشيد والشايب، محمد سامر(1998). استخدام البرنامج الاحصائي SPSS. مطبوعات الجامعه، دار الشرق للطباعه، صفحه358.

*العمري،هند(٢٠٠٨).الغذاء ومرض السرطان.ملازمة منشورات كلية العلوم الطبية التطبيقية-جامعة الملك سعود.المملكة العربية السعودية.

*الموسوي، ازهار جعفر(2006). دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات الصفصاف *Salix acmophylla* في نمو الخلايا الخلويه السرطانيه والخلايا اللمفاويه الطبيعيه للانسان خارج الجسم. رسالة ماجستير، كلية التربيه-جامعة كربلاء.

*النعيمي،ابتهال حسين محمود (2007).التأثيرات البايولوجية لمستخلص نبات الكبر والحميض في الخلايا الطبيعية والورمية للانسان والحيوان. رسالة دكتوراه مقدمة الى كلية العلوم–جامعة النهرين.

*اليعقوبي،كفاح جبار شاكر(2004).دراسة تأثير مستخلصي الكحول الاثيلي والهكساني لثمار نبات الهيل *Ellettria cardomomu(Cardamom)* في خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية للدم المحيطي للأنسان خارج الجسم.رسالة ماجستير،كلية العلوم-جامعة الكوفة.

*رويحة وأمين (1983).التداوي بالاعشاب.الطبعة السابعة. دارالقلم-بيروت.

*سلمان، اسراء صكبان(2008).تأثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغان *Silybum marianum L.* على الخطوط الخلويه السرطانيه والطبيعيه، رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات-جامعة بغداد.

*صالح،خالد مهدي (2007).تأثيرالغذاء الملكي والكبر على بعض الخلايا الورمية في الزجاج والحي.اطروحة دكتوراه، كلية العلوم-الجامعة المستنصرية.

*عبد الحسين،غصون عادل (2008).دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في طفيلي الزحار الاميبي *Entamoeba histolytica* داخل الجسم الحي،رسالة ماجستير.كلية العلوم-جامعة بغداد.

*قطب،فوزي طه (1979).النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها،الدار العربية للكتاب،ليبيا.

*كريم،جلال كريم(٢٠٠٧). دور المستخلص المائي للراوند *Rheum ribes* والزعتر *Thmus syriacus* في تثبيط التأثير التطفيري للعقار Gemcitabine والتأثير التسرطني لمادة DMBA -7,١٢ في ذكور الفئران البيض، رسالة ماجستير، كلية الزراعة-جامعة دهوك.

A

*Abarca, M. L. ; Bragulat, M.R. ; Castella, G. ; Accensi Nanez,X.,Clifford,M.N.,Walker,R. Ioannides, F. and Cabanes, F. J.(2000). Mycotoxin producing fungi. Rev. Iberoam Micol., 17:563-568.

*Abbas,A.,C.(1996).A comparison of the antimutagenic potential of green,blak and decaffeinated teas:Contribution of Flavonols to The antimutagenic effect.Mutagenesis,11:597-603

*Abd-Elhady,F. ;Hegazi ,A. ,Ata ,N. and Enbawy , M.(1994) Studies for determining antimicrobial activity of Solen ostomma argel .1-Extraction with metharol ,water in different propotions . Qater univ. Sci . , 14(spec, issue):138-142.

*Alexandrova, R.; Varadinova, T.; Velcheva, M.; Genova, P. and Sainova, I.(2000). Cytotoxic effect of isoqyinoline alkaloids on tumor cell lines, Experimental pathology and parasitology, 4:8-14.

*Allen,J.W;Schuler,C.F.;Mendes,R.W.and Latt,S.A.(1977).Asimplified technique for in vivo analysis of sister chromatid exchange using 5-bromodeoxy uridine tablets,Cytogentics,18:231-237.

*Al-Maisry,M.(1999).Effect of oil and alcoholic extract of Azdirachta indica on some pathogenic fungi of plant,M.SC.Thesis.Science college,Al-Mustansria University.

*Aronson,K.(2003).Alcohol:A recently identified risk factor for breast cancer.Canadian Medical Associaition,C.M.A.J.,168.1147-1148.

*Ataya,K.,Valeriot,F.and Ramahi.,A.(1989).Effect of Cyclophosphamide on the immature rat ovary.Cancer Res.,49:1660-1664.

*Atherder L.M.(1969).Bentter and drivers text book of phanmacentical chemistry,oxford.univ.,press,London.

*Atta,A.B.*et al* (1998).Anti-rociceptive and Anti-inflammatory effects of celery.*Ethnopha rmacology*.,60(2):117-124.

*Au,O.and Zhu,S.(1990).Function of chromosomal aberration male mouse.Mutation Res.244:209-214.

*Auler,L.(1976)Aberration induction by mitomycin C in early primary spermatocytes of mice.Mutation Res.35:247-256.

*Ault,J.G;Cole,R.W.;Jensen,C.G;Jensen,L.:L.A.Bachert,L.A.andRieder,C.L.(1995).Behavior of crocidolite asbestos during mitosis in living vertebrate ling epithelial cells.Cancer Res.,55:792-798.

B

*Bedir,E.and Khan,I.A.(2000).New steroidal glycosids from the fruit of tribulue terrestris .J.Nat.Prod.,63:1699-1701.

*Bourgaize,D.;Jewell,T.and Buiser, R.(2000).Biotechnology,demytifing the concepts,(4^{th} ed.),McGraw Hill press,New York,pp.:313-335.British Medical Association(BMA).Complementary medicine-new approaches to good practice.

*Brandes , L. J. ; Arron, R. J.and Bogdanovic, R. P. (1992) . Stimulation of malignant growth in rodents by antidepressant drug clinically relevant doses.Canser Res.,52:3796-3800.

C

*Caceres-Cortes, J.R.; Cantu-Graza,F.A.; Mendoza-Mata, M.T.; Charez-Gonzales ,M.A.Ramos-Mandujano,G. and Zambrano-Ramires , I.R. (2001). Cytotoxic activity of Justica-Spicigera is inhibited by Bcl2 proto-oncoyenes and induces apoptosis in a cell cycle dependent fashion, phytothes.Res.,15:691-697.

*Castoldi ,G; Scapoli, P.and Spanedda, R. (1969). chromosoes and chloramphenicol.Arch.Ltal.Patol.Clin.Tumori,12:117-141.

*Chou, W. C. ; Hawkins,A. L. ; Barrett, J. F. ; Griffin, C. A. and Dang, C.V.(2001).Arsenic inhibition of telomerase transcription leads to genetic instability. J. Clin. Invest., 108:1541-1547.

*Clarke,A.R.and Harrison D.J. (1993).Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways.Nature.,362:849-852.

*Cogo, E. and Kevinlai, N. D.(2003). Should ginseng be considered for cancer prevention Z. compl. And Alter. Med. 80:153-155.

*Cooper, G.M.(1997). The cells: Amolecular approach. Oxford University press, Oxford, pp.599-608.

*Correa,P.A.(1992). H uman gastric carcinogenesis:a multistep and multifactorial process. First Americal Cancer Society a word lecture on cancer epidemiology and prevention.Cancer Res.,52:6735-6740

*Craig,W.J.(1999). Healh-Promoting properties of common herbs .Am . J.Clin. Nutr.7a:491s-499s.

*Crook,T; Souhami, R. and Mlean, A. (1986). Cytotoxicity DNA cross-linking and single breaks in human leukemia cell. Cancer.Res.46 (10): 5029-5034.

D

*Danilin,V.A.; Voronin,A.K. and Modorskii, V.S. (1999). The state of health of personnel working in high-voltage electric fields.Gig.Tr. prof. Zabol.,13:151-152.

*Davis,D.L.;Telang,N.T.;Osborne,M.P.and Brodlow,H.L.(1997).Medical hypothesis:Bifunctional genetic-hormonal pathways to breast cancer. Envionmetal Heath perspective (USA).,105/suppl. New Yourk, Avenue, Washington, DC2000 USA.

*Deflora,S.and Ramell,C. (1988). Mechanisms of mulagenesis and carcinogenesis,classification and over view. Mutat.Res.,202:285-306.

*De-Smet,P.A.G.M.(1997)The role of the plant –derived drugs and herbal medicines in health care,Drugs:56:801-854.

*Dragsted,L.O.; Strube ,M. and Larsen, J.C. (1993). Cancer-protective factorsin fruits and vegetables: biochemical and biological background . Pharm. Toxical;72(suppl.1): s116-s135.

*Draoui,M.; Siegall,C.B.; FitzGerald,D.; Pastan,I. andMoody,T.W. (1994).TGF α-PE40 inhibits non-small cell lung cancer growth. life sci;54:445-453.

*Duke,J.(1993).Lupinus perennis:hypotensive Wildflower hypertensine wires.Colts foot,14(6):4-5.

E

*Elangovar,V.; Ramamrthy, N.;Balasubrama bian,S.;Sekar,N.and Govidsany (1994). Studies on the antiproliferative effect of some naturally occurring bioflavonoidal compounds against human carcinoma of larynt.

*Evans, W.B. (1999). Trease and Evan's pharmacognosy. ed.W.B.Saunders Company Ltd.u.k.

*Evans,E.P.;Breckon,G.;and Ford,.C.E.(1964).An air drying method for meiotic preparation from mammalian testes.Cytogenetics,3:284-294.

F

*Fedeal Register, (1993) .Food labeling :Health claims and label statements:Antioxidants and Cancer.Final Rule,Vol.58:2622-2660

*Feoron, W. R. and Vogelstein, A.(1990). Agenetic model for Colorectal tumorigenesis. Cell, 16:759-767.

*Fetile,B.and Malaise,E.P.(1995).Intrinsic radiosensitivity of human cell lines is correlated with published survival curves.Int.J.Radiat.Oncel.Biol. phys.,111:111699-111707

*Folkman,J.(2003).Fundamental concepts of the angio genig process.Curr.Mol.Med.,3:643-651.

*Forkmann,G. and Martens, S.(2001). Metabolic engineering and applications of flavonoids, Curr.Opinion Biotech.,12:155-160.

*Frederich, M.; Bentires-Alj, M.; Tits, M.; Angenot, L.; Greiners, R.; Gielen, J.; Bours, V. and Merville, M. P.(2003). Isostrychnopentamine an

indolomonoter Penice alkaloid from *human Strychnos usambarensis* ,induces cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells, Journal of prarmacology and experimental therapeutics fast forward, 304(3):1103-1110.

*Freshney,R.I.(2000).Culture of animal cell:Amanual for basic technique (4thed).Wileyliss, Ajohn wiley and Sons, Inc. Publication, New York

G

*Ghareeb, A. and George ,N.M.(1997).Cytotoxicity of insecticide temik 15 G (Decarb) in mitotic and meiotic cells of *Vicia faba* plant. Cytologia, 62:259-263.

*Ghersi,D.;Wilcken,N.and Simes,R.J.(2005). Asystematic review of taxane containing regimeus for metastatic breast cancer Br.J. Cancer 93:293-301.

*Gurib-Fakim,A.(2005).Medicinal plants.Tradition of yesterday and drugs tomorrow.Molecular Aspects of Medicine.

H

*Hanausek, M.; Ganesh, P.; Walas Zek,; Arntzen, C. J.; Staga, T. J. and Gatterman, J. U.(2001). Avicins, a family triterpenoid saponins from *Acacia victoriae* (Bentham), suppress H-ras mutations and aneuploidy in a murine skin carcinogenesis model, pro. Nat. Acdd. Sc. USA, 98:11557-11562.

*Hansen,K.and Mossman,B.T.(1997).Generation of superoxide from alveolar macrophages exposed to asbestiform and nonfibrous particles.Cancer Res.,47:1681-1686.

*Harborn,V.B.(1973).Phrborn chemical methods.A guide to modern technique of plant analysis London.

*Harborn,J.B.(1984).Phytochemical methods:A guide to modern techniques of plant analysis 2nd ed.chapman and Hall,NewYork.

*Hesterberg,T.W.and Burrett, J.C.(1995).Induction by asbestor fibers of anaphase abnormalities:mechanism for aneuploidy and possibly carcinogenesis.,6:473-478.

*Hesterberg,T.W.and Burrett, J.G.(1995).Induction by asbeston fibers of anaphase abnormalities: mechanisms for ancuploidg and possibly carcinogenesis.

*Hickson,I.D. and Harris, A.L.(2006). Mammalian DNA repair-use of mutants hypersensible to cytotoxic agents Trends Genet.,40:11101-11106.

*Hoet. P. H. M. ; Bruske-Hohlfeld, I. and Salata, O.V.(2004). Nanoparticles-Known and urkown health risks. Journal of Nanobiotechnology, 2:12-26.

*Hollsberg , p.(1999). Mechanism of T-cell activation by human T-cell lymphotropic Virus type 1.Microbiology and molecular Biology Reviews ,63(2):308-333.

*Hoppe,H.A.(1975):DrogenKunde,Band1,Angiospermen,8.Auflage.Walter Gruyter and Co.,Berlin,Germany.

*Huang,D.M.;Jih,H.G.;Yao,T.H.;Shih,C.C.;Hui,PandChe,M.T.(2002).Cardiac glycosides induce to tubulin-dependant human prostate cancer,J.Biomed.Sci.,9:443-452.

I

*Islam,M.W.R;Radhakrishnan,X.M.;Liu,H.B. and AL-Naji,M.A.(1994). Safety evaluation of *Zizyphus spinachristi* L.and *Teucrium stocksianum* biss.,used in traditional medicine in the Arabian Gulf.

J

*Jacob, R.A. (1995). The integrated antioxidant system. Nut. Res., 15:755-766.

*Jaffer,H.J; Mohmod,M.J.; Jawad,A.M.; Naj,A. and Alnaib,A. (1983). Phytochemical and biological screening of some Iraqi plant,Fitoterapia Lixzaq.

K

*Kada,T.;Inove,T.Ohta,T.;and Shirasu,Y.(1985)Antimutagens and their modes of actier.NewYork.Vol.39:181-196.

*Kang .y. ; Xu ; C.J. ; Liu, X. S. ; Wu, C. Q ; Zhong, C. p. and Gu, J. R. (2005). Herpes Simplex Virus type 1thymidine Kinase Lganciclovir CHSV 1-TK (GCV) Cystem asan effective *in Viveo* death swich" of live tumov Vaccines A-Zheng. (Chinese), 24:909-914.

*Kasahara,Y.;Nakai,D.;Miura,K.and Hirbayashi,T.(1992).Mechanism of micronuclei and chromosome aderration in mouse bone marrow by multiple treatment of methorexate.Mutation Res.280:117-128.

*Katiyar, S,K.Agarwal ;Wang, Z.Y. ;Bhatia, A.K. and Mukhtar, H.(1992). Epigallo cation.3 gallate in Camellia Sinensis Leaves From Himalayn Region of Sikkimi inhibitory effects agains biochemical events and tumer inhibition in Sencarmouse. Nutr, Cancer, 18(1):74-83.

*Kennedy,K.A;Crouchl,S. and Warshaw J.B.(1999).Effects of hyperoxia on antioxidation in neonatal rat type II cell in vitro and in vivo. Pediatr .Res.,26:400-403.

*Khurana, S. ; Duby ,M.L. and Malla, N.(2005). Association of parasitic infection and Cancers. Indian J. Med. Microbiol.,23:74-79.

*Kief,H.(1993).The treatment of malignant disease with AHIT.IN:ozone inMedicie,Proceeding Eleventh Ozone World Congress,pp.4.26-M-4-31.

*Kornhauser,A.;Wamer,W. and Giles,A. (1996).Protective effects of betacarotene against phototoxicity:relevance to protection against carcinogenesis.In:D.M.shankel,P.E.Hartman,T.Kada and A.Holaender (eds.).antimutagenses Vol 39,pp.465.plenum Press,Nr.

*Kown,C.;Maddion,K.,Lacastro,L. and Broch,R.(1987)Accelerated decomposition of 4-hydroxycylophos phamide by human Serum albumin Cancer Res.46(6):1505-1508.

*Kufe,D.W.: Pollock,R.E.; Weichsdbaanm .R.R.; Bast,R.C.; Gansler,T.S. and Holl (2003). Cancer medicine, (6th ed.),B.C. Decker of pathology, (13th ed),oxford university press Inc.New York USA,pp.355-409.

L

*Lee,B.M.,Lee,S.K.and Kim,H.S.(1998).Inhibition of oxidative DNA damage,8ohedg.And carbonyl content in smokers treated with antioxidants(vitamin E,C,beta-carotene and red ginseng).Cancer let. 132(1-2):219-227.

*Littlefeied, L.;Colyer, S.and Dufration, R.(1980).Comparison of SCE in human lymphocyte after exposure to MMC in vitro,in vivo.Mut.Res.,67:191-195.

*Loken,M.K. and Einendegen, L.E.F.(1993).Radiation Hormesis:Its emerging significance in medical practice.

* Lopez-Lazaro, M. ; Galvor, M.; Martin-Lorder, C. and Ayuso, M. J.(2001). Cytotoxicity of flavonoids on Cancer cell Line. Structure-activity relation-ship.Med.chem., 1:82-114.

*Lopez-Lazaro, M.(2002). Flavonids as anticancer agents: structure – activity relation shaip study. Curr. Med. Chem., :691-714.

*Lopus,M.and Panda,D.(2006).The enzophena thridine alkaloid sanguinarine perturbs micro-tubule assembly dynamic through tubulin binding.A possible mechanism for its antiproliferative activity .J.FEBSIO:2139-50.

*Lugo, M. ;Rouchfuss, H. ;Zakour, H. ;Allen, J. and Hozier, D.(1989). Evidence for chromosomal replication as units of sister chromatid exchange. Cancer Res.66(8):1112-1117.

M

*Mac Sween, R.N.M. and Whalcy, K. (1997). Muiŕs textbook of pathology (13th ed.), Oxford University Press Inc.,New York,USA,PP. 355-409.

*Madden, C. R.; Finegold, M. J. and Slagle, B. L.(2002). Alterd DNA mutation spectrum in aflatoxin B 1-treated transgenic mice that express the hepatitis B. virus protein. J. virol. ,76:11776-11774.

*Manna,G.K.(1971)Bone marrow chromosome aberrations in mice induced by some physical,chemical and living mutagens ,proc. Cytol. Genet.,13:121-133.

*Manna,G.K;and Smriti,B.(1983)Effects of low antibiotics on the chromosomes and mitotic frequency in bone marrow cells of mice chromosomes Today:277-272

*Manosroi,J.;Dhumtanoma,P.and Manosoi,A.(2005).Anti-prolif.erative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines.cancer letters:1-7.

*Marjori,L.C.;Teixeria,R.O.;Mantovani,M.S.and Vicentini,V.E.P.(2002). Effects of Maytenus ilicifolia mart. and Bauhinia Candi Cans Benth infusions on onion tip and rat bonemarrow cells.Genetics and molecular biology,25(1):85-89.

*Mather, J.P. and Roberts, P.E. (1998). Introduction to cell and tissue culture theory and technique. Plenum Press, New York.

*Meng,X.L.;Riordan,N.H;Casciari,J.J;Zhu,Y;Zhong,J.;Gonzalez,M.J.;Miranda-Massari, J.R.and Riodan, H.D.(2002).Effect of a high molecular

mass *Convolvulus arvensis* extract on tumer grouth and angiogenesis,PRHS.J.;21:323-328.

*Mercykutty,V.C.and Stephan,J.(1984).Adrimycin induce genetic toxicity as demonstrated by the *Allium cepa* test.Cytologia.,45:769-777.

*Miura,K.,Mortmoto,K.and Koizumi,A.(1983).Proliferation Kinetics and MMC-induced chromosome damage in fanconis anemia lymphocytes.Hum.Genet.63:19-23.

*Moore, A.E.; Sabachewesky ,L.and Toolen, H.W.(1955). Culture characteristics of four permanent lines of human cancer cells.Cancer Res.,15:598-605.

*Mori, T.; Ohnishi ,M. ;Komigama, M. ;Tsutsui, A. ;Yabnshita, H. and Okada,H.(2002).Growth inhibitory effect of *Paradicsom paprika* in cancer cell lines. Oncology Reports, 9:807-810.

N

*Nakamura Y., Yanai, H. ; Kiton, T. ; Matsubara, Y. ; Hirano A. ; okamoto T. ; Yoshida, T. ; Okita, K. and Matsusaki, K.(2005). Mucin and differentiation in Epstein-Barr Virus-associated gastric Carcinoma. Hepatogastroenterology, 52:1066-1070.

*Nakayama,T.;Hor,K.;Terazawa and Kawakish S.(2002).Comparision of the cytotoxicity of different hydroperoxides to V79cell.Free Radical Res. Commun.,14:173-178.

*Nakayama, T.; Hiramitsu, M.; Osama;T. and Kawakish, S. (2003). The protective role of gallic acid esters in bactertial cytotoxicity and Sos responses indused by hydrogen peroxide. Mut. Res., 303:29-34.

*Nicholsons, W.J.and Landrigan,P.J(1989).Quantitative assessment of lives lost due to delay in the regulation of occupational exposure to benzene.Environmental Health Perspectives,82:185-188.

*Nielsen, S.E.,Young J.F.;Daneshvar, B.,Lauridsen, S.T.;Knuthsen P.,Sandstrom, B.and Dragsted, L.O. (1999).effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion,blood antioxidant enzymes and bhomarkers for oxidative stress in human subjects. British Journal of Nutrition;81:447-455.

*Noruzinia M.;Coupier,I.and Pujol,P.(2005).IsBRCA1/BRCA2-related breast carcinogenesis estrogen dependent.Cancer,104:1567-1574.

O

*Ojala T.,Remes S.,Haansuu P.,Vuorela H.,Hiltumen R.,Haahtela K.and Vuorela, P.(2000).Antimicrobil activity of some coldmarin containing herbal plants growing in Finland.J.Ethnopharmacology.73:299-305.

*Oklsborne.M.P.; Karmali.,R.A.;and Hershcof,R.J.(2000). W-3faaty acids: modulation of estrogen metabolism and potentiad for breast cancer prevention.Cancer Invest..,1629-1631.

*Olivier,G.;Bodycote.,J.and wolff S.(2004).Adaptive of radicactive thymidine Science 1223:11594.

p

*Papatheofanis,F.J.(1990).Use of calcium channel an tagonsis as magnetoprotective agents.Radiat.Res.122:24-28.

*Parkin, D.M. ; Bray, F. ; Ferlay, J. and Pisani, P.(2005). Global cancer statistics,2002. *CA Cancer J. Clin*., 55:74-108.

*Parkin,D.M. ;Ohshima,H. ;Srivatanakul,P. and Vatanasapt,V. (1993). Cholangiocarcinoma:Epidemiology,mechanism of carcinogenesis and prevention.Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.,2:537-544.

*Pazdur,R.; Coia,L.R.; Hoskins,W.J. and Wagman,L.D. (2001). Cancer management:Amultidiscipliary approach, (5^{th}ed.) PRR, Melville, NY.pp. 1000.

*Pellechia, M.I. and Reed,J.C.(2004).Inhibition of anti-apoptosis BC1-2 family proteins by cancer chemoprevention and chemotherapy Curr.Pharm.DES.,10:1387-1398.

*Phillips,D.H.(2002).Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues.Carcinogenesis,23:1979-2004

*Pieper, R. ; Fustcher, B. and Erichson, L.(1986). City of versuschili and Cancer 8(3):201-210.

*Pillans, P.; Pon, Z. S. and arker, M.(1989). Cytophosphamide induced DNA strand breaks in mouse embryo cephalic tissue *in vivo.* Carcinogenesis 10(1):83-85.

*Pitot,H.C.;Hikita,H.;Dragan,Y.;Sargent,L.and Haas,M.(2000).Review article:the stages of gastrointestinal carcinogenesis application of rodent models to human disease. Aimentary pharmacology and Therapeutics(suppl),140-153.

*Pornthanakasem W. ; shotelersuk, K. ; Termrum ganglert, W. ; Voravad, N. ; Nivuthisard, S and Mutirangura, A.(2001). Human Papillomavirus DNA inplasma of Patients with cervical Cancer. BMC cancer, 1:2-9.

*Pryon,W.A and J.V.and Chrch D.F.(1991).Aldehdes hydrogen peroxide and organic radicals as mediators of ozone toxicity.Free.Biol Med.,11:41-46.

*Pryor,W.A. and J.W.Lightsey.(2003).Mechanisms of nitrogen dioxide reactions:initiation of lipid peroxidation and the production of nitrous asid.Science.,214:435-437.

R

*Razzaghi-Abyaneh M.,Yoshinari T.,Shams-Ghahfar, Okhi, M.;Rezaee M.B.,Nagasawa H.and Sakudas (2007).Dillapiof andApiol as Specific Inhibitors of the Biosynthesis of Aflatoxin G1in *Aspergillus parasiticus* Biosci,Biotechnol.Biochem.71(a)2329-2332.

*Reddy,E.P.; Reyndds,R. Ksavtos; E. and Barbacid, M. (1992). Apoint mutation is responiple for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene.Nature.,300:149-152.

*Robbers,J.E.; Speedia,M.K. and Tyler,V.E.(1994). Pharmacognosy and pharmacobiotechnology.Baltimoreiwilliams and Wilkins.

*Rosenberg, S.A. (1997). Principles of cancer management: Biologic therapy. In : V.T. De Vita ; S. Hellman and S. A. Rosenberg (Eds.), Cancer : principles and practice of oncology, (5^{th} ed.), Lippincott-Raven Publishers , Philadelphia, pp.349-373 .

*Russel,P.J.(1998).Genetics,5^{th}ed.The Benjamin Cumminge Publishing Company.Inc.Mcnlopark,USA.PP.585-614.

S

*Sadeghi,H and Yazdanparst,R.(2003).Antitumor Activity and cell cycle arrest of a new Diterpene Ester from *Daphne mucronata*.

*Saggoo, M. I. S. Kumari , S. and Bindu(1991).Cytological effects of India medicinal plants I. Mitotic effects of leaf homogenate of *tylophora indical* on *Allium cepa* Cytologia, 56:33-637.

*Sakagami, H.(1995). Effect of tannins on cancer cell lines.Anticancer Res. 15:2121-2128.

*Schelyle,E.S. ;Adams,W.C. and Siefkin A.D. (1997). Indomthacin pretreatment reduces ozone-induced pulmonary function decrements in human subjects.Amer,Rev.Respir.DIS.136:1350-1354.

*Schmid,W.(1975).The micronucleus test.Mut.Res.31:9-15.

*Schoket,B.(2004).The role of DNAadducts in smoking related carcinogenesis.Magy. Onkol. 48:201-205.

*Siess M.H.;Lebon ,A.M.and Suschetet M. (1992).Dietary modification of drutuetabolizing enzyme activities:Healh.,35:141-152.

*Soto, A.M. and Sonnonschein, C. (2005). The role of estrogen in the proliferation of human breast tumor cells (MCF-7). J. Steroid Biochem., 23:87-94.

*Stahl,R.(1969).Thin layer chromatography a laporotary hand book Z^{ed} ed.Translated by Ashwor th:M.R.spriner;Verlag Berlin.

*Stevens,A.and Lowe,J.(2000).Pathology,(2nded.),ppp,Mosby Company London,pp.79-104.

*Stich, H.(1992). Tea and tea components as inhibitors carcinogen formation in model systems and man. prev.med. 21(3): 377-387.

*Suit,H.D.andTodoroki ,T.(1995).Rationale for combining.Surgery and radiation therapy.Cancer.,55:2246-2249.

T

*Takada, S.; Kelkar, A. and Theurkouf; W.(2003). Drosophila check point kinase zcuples centrocome function and spindle assembly to genomic integrity-cell 113:87-99.

*Tang, Z.Y.(2001). Tepato cellular carcinoma-cause, treatment and metastasis. World J. Gastro enterol, 7:445-454.

*Teixeira,R.;Camparoto, M.; Mantovani, M. and Vicentini, V. E. (2003). Assessment of two medicinal plants, Psidium guajava L. and Achillea millefolium L., in in vitro and in vivo assays. Genetics and Molecular biology 10:1415-1417.

*Tice,R.R.;Erexson,6.L.and Hilliard,C.J.(1990).Effects of treatment protocol and sampling time on the freguencies of micronucleated poly chromatic erythrocytes in mouse bone marrow and peripheral blood.Mutagenesis;5:313-321.

*Tomczak,M.F.;S.E.Erdman,S.E.;Davidon,A.;Wang,y.y.;Nambair,P.P.;Rogers,A.B.;Rickman,b.;Luchetti,D.(2001)Fox,induced colitis by1l-10 Requires the p50/p105 subunit of NF{Kappa}B.J.Immnol.,177(10):7332-7339.

*Toolan,H.w.(1954).Transplantable human neoplasms maintained in cortisone treated laboratory animals:H-S.-1,Hep-1,Hep-2,Hep-3.Cancer Res.,14:660-666.

* Tsuii,K.and Ogwa K.(1994).Recovery from ultraviolet-induced growth arrest of primary rat hepatocytes by p^{53} antisense oligonucleotide treatment .Mol.Carcinogenesis 9:167-174.primary prevention.In:Origins of Human Cancer Res.,49:4062-4067.

U

*Usui,T.;Kondoh, M.; Cui, C-B., Mayami,T. and Osada,H. (1998). Tryprostatin A,aspecific and novel inhibiton of microtubule assembly.Biochem.J.,333:543-548.

*Upton, A. C.(1991). The question of there shold for radiation and chemical Carcinogenesis. Cancer Invest., 17:126-1276.

V

*Varmus,H.E.(1994).The molecular genetics of cellular oncogenes. Ann.Rev. Genet.,18:553.

*Versalovic,J.G.(2003).*Helicobavcter pylori* pathology and diagnostic strategies.A.M.J.Clin,pathol.,119(3):403-412.

*Vora,S. H.; Patil, R.B. and Pillai M.M.(2008). Protective effects of *Petroselium crispum* (mill) Nymanex A.W.Hill leaf extract on D-galactose-induced oxidative stressin mouse brain.Indian Journal of Experimental Biology 47:338-342.

W

*Walter,J.B.;Talbot,I.C.;Gardnet,H.A.;Halloran,P.F.;Zuckerman,M.;Bird A.G. and Forbes,A.(1996).Walter& Israael general pathology 7th ed Churchill Livingston,New York.pp.425.

*Wang,Z.Y;Chen,S.J.;Zhon,Z.C.;Athar,M.;Khan,M.A.;Bickers,D.R.; and Mukhtar,H.(1989).Antimutagenic activity of green tea polyphenol. Mutat. Res.23:273-285.

*Weiner,L.M.;O Dwyer,O.and:Kitson,O.(1999).Phase I evalution of an anti-breast Carcinoma monoclonal antibody 26 of 9-recombinant ricin A chain immunoconjugate. Cancer Res.,49:4062-4067.

*Weisch, C.W.and Dehoog, J.V.(1993).Retinoid feeding of the combined treatment with N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and overiectomy.Cancer Res,42:508-512.

*Weisch,C.W.; Brown, C.K.; Goodrich-smith., M. chiusano,J. and.Moon, R.C. (1998). ergstic effect of chronic prolactin suppression and retinad treatment in the prophylaxis of N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary tumorigenesis in female.

*Weisch,C.W.; DeHoog, J.V. and Moon, R.C.(1990).Inhibition of mammary tumorgenesis in nulliparous C_3H mice by chronic feeding of the combined treatment with N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and overi ectomy. Cancer Res.,42:508-512.

*Weitzman,S.A.and Graceffa, P.(1995).Asbestos Catalyzes hydroxyl and superoxide radical generation from hydrogen peroxide Arch. Biochem.Biophys.,228:373-376.

*Whitehouse,M.W.,Roberts,M.S.and P.M.Books(1999).Over theCounter OTC oral remedies for arthritis and rheumatisms how effective are they Jeallergy,30(20):2000-2001.

*Williams, M. and Quhtit, A.(2005). Towards abetter understanding of the molecular mechanisms in volved in sunlight-induced melanoma. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 1:57-61.

*WWW.6abib.Com 2008

Y

*Yang,C.S.;Brady,J.F.and Hong, J.Y.(1992).Dietary effects of cytoch romes P-450 xenobiotics metabolism,and toxicity.FASEBJ.6:737-744.

*Yang,C.S.; Theresa,T.J.and Hong, J.Y.(1994). Cytochrome P-450 enzymes as targets for chemoprevention against carcinogenesis and toxicity: opportunities and limitation.Cancer Res.,(Suppl.)54:19823-19865.

*Yun,T.K.;Yun,Y.S.and Han,I.W.(1983).Anticarcinogenic effect of red ginseng on new born mice exposed to various chemical carcinogens cancer Detect Prer.6(6):515-525.

*Yuspa, S. H. ; Dlugosz, A. A. ; Cheng, C. K. ; Denning, M. F. ; Tennenbaum, T. and Weinbreg, W. C.(1994). Role of oncogenes and tumor suppressor genes in multistage carcinogenesis J. Invest. Dermatol., 103:90S-95S.

Z

*Zhang H.,Chen F.;Wang,C. and Yao, H.Y.(2006).Evalution of antioxidant activity of porsely (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents.Food Research International.39:833-839.

ملحق (I) : الاجهزة والمستلزمات المختبرية

الدولة / الشركة المصنعة	الاجهزة والادوات
Concord / Lebanon	Refrigerator ثلاجة
L4 diamond / England	Distiller جهاز تقطير
Sanyo / England	Incubator حاضنة
Germany/Precisterm	Water bath حمام مائي
Gllenkamb / England	Hot plate صفيحة حارة
Germany	Dissecting set عدة التشريح
Olympus / Japan	Light microscops مجهر ضوئي
England/Gallenkamp	Magnetic stirrer محرك مغناطيسي
Buchi / Swatzerland	Rotary evaporator مبخر دوار
Beckman / USA	PH-meter مقياس الأس الهيدروجيني
Tomy / Japan	Autoclave جهاز التعقيم (موصدة)
Switzerland/Precisa balance	Sensitive electronic balanceميزان حساس
TDL80 /2B / India	Centrfuge نابذة

U.k ./Flow lap.,Irvine	أطباق الزرع النسيجي متعدد الحفرذو 96 حفرة مسطحة Microtiter plate for tissue culture with 96 flat bottom wells
U.S.A/Millipore	أنابيب أختبار زجاجية حجم Test tube (10مل)
U.S.A/Millipore	فلتر تعقيم Milipore Filter 0·22µ
U.S.A/Millipore	كابينة معقمة Hood
U.S.A/Millipore	قارىء الألايزا Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA).

ملحق (II) : المواد الكيميائية والحياتية

الدولة / الشركة المصنعة	اسم المادة
BDH / England	Sodium Bicarbonate بيكاربونات الصوديوم
BDH / England	Hydrochloric Acid حامض الهيدروكلوريك
BDH / England	Glacial Acetic Acid حامض الخليك الثلجي
BDH / England	Sodium citrate سترات الصوديوم
Baxter / Germany	Cyclophosphamide سايكلوفوسفامايد
Fluka / Switzerland	فوسفات ثنائية الصوديوم الهيدروجينية Di Sodium hydrogen phosphate
Fluka / Switzerland	فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين Sodium di hydrogen phosphate
BDH / England	Phenol فينول
Fluka / Switzerland	Sodiun carbonate كاربونات الصوديوم المائية
BDH / England	Ethanol كحول اثيلي
BDH / England	Methanol كحول مثيلي

Fluka / Switzerland	Ammonium sulphate anhydrous	كبريتات الامونيوم اللامائية
BDH / England	Potassiun Chloroide	كلوريدالبوتاسيوم
BDH / England	Chloroform	كلورفورم
BDH / England	Amonium Chloride	كلوريد الامونيوم
BDH / England	Sodium Chloride	كلوريد الصوديوم
BDH / England	Ferric Chloride	كلوريد الحديديك
BDH / England	Mercuric Chloride	كلوريد الزئبقيك
سوريا / ابن حيان	Colchicine	كولجيسين
Sigma / USA	Giemsa Stain	ملون كمزا
BDH / England	Eosin Stain	ملون الايوسين
BDH / England	Sodium hydroxide	هيدروكسيد الصوديوم
BDH / England	Potassium hydroxide	هيدروكسيد البوتاسيوم
BDH / England	Potassium iodide	يوديد البوتاسيوم
ASIA/Syria	Streptomycin	المضاد الحيوي الستربتومايسين

ASIA /Syria	Penicilline	المضاد الحيوي البنسلين
ASIA /Syria	Nystatin	المضاد الفطري نستاتين
المركز العراقي لبحوث السرطان وراثة الطبية/العراق	Fetal calf serum	مصل العجل البقري
USA/Sigma	Rosswell Park Memorial Institute (RPMI-1640)	الوسط الزرعي
USA/Sigma	Minimum Essential Media (Mem)	الوسط الزرعي
USA/Sigma	Trypsin	التربسين
USA/Sigma	Versin	الفرسين
USA/Sigma	Trypsin-Versin	التربسين-فرسين
USA/Sigma	Crystal violet	صبغة البنفسج البلوري
المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية /العراق	Hep-2	خط خلايا سرطان الحنجرة
المركز العراقي لبحوث السرطان	HeLa	خط خلايا سرطان الرحم

والوراثة الطبية/العراق		
المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/العراق	AMN-3	خط خلايا سرطان الغدة اللبنية لإناث الفئران

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

ٱللَّهُ لَآ إِلَٰهَ إِلَّا هُوَ ٱلْحَىُّ ٱلْقَيُّومُ ۚ لَا تَأْخُذُهُۥ سِنَةٌ
وَلَا نَوْمٌ ۚ لَّهُۥ مَا فِى ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَمَا فِى ٱلْأَرْضِ ۗ مَن ذَا ٱلَّذِى يَشْفَعُ
عِندَهُۥٓ إِلَّا بِإِذْنِهِۦ ۚ يَعْلَمُ مَا بَيْنَ أَيْدِيهِمْ وَمَا خَلْفَهُمْ ۖ وَلَا يُحِيطُونَ
بِشَىْءٍ مِّنْ عِلْمِهِۦٓ إِلَّا بِمَا شَآءَ ۚ وَسِعَ كُرْسِيُّهُ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلْأَرْضَ ۖ
وَلَا يَـُٔودُهُۥ حِفْظُهُمَا ۚ وَهُوَ ٱلْعَلِىُّ ٱلْعَظِيمُ ﴿٢٥٥﴾

صدق الله العظيم

سورة البقرة : الآية 255

الاهداء

***الى ينبوع الحنان التي ذكراها تعطر ايامي**

وادين لها بالفضل الكبير   جدتي (رحمها الله)

***الى من احاطاني بالعطف والرعاية وكانوا**

عوني وسندي ووضعاني على طريق

العلم والمعرفة   ابي وامي

***الى من رافقوني حلي وترحالي   اخواتي-اخي**

***الى البراعم الصغيرات في بستان حياتي**

اللواتي احبهن كثيرا   بنات اخي (صبح واخواتها)

***الى رفاق دربي اللذين شدو من ازري**

وشاركوني مشواري   صديقاتي وزميلاتي

***الى من أضاءوا لي دروب العلم والمعرفة   اساتذتي**

***الى من ترابه اغلى من الذهب وعزته**

اعلى من الجبل   وطني العراق العظيم(وفاءً وعرفانا)

***والى كل من يسره نجاحي**

اهدي ثمرة هذا جهدي المتواضع

أفنان

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.researchgate.net/profile/Salam_Alhelali?ev=hdr_xprf

07807137614

